

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1898

THÈSE

N^o

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le jeudi 21 juillet 1898, à 1 heure

PAR

Édouard RIST

INTERNE DES HOPITAUX DE PARIS

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE M. LE PROFESSEUR GRANCHER

ÉTUDES BACTÉRIOLOGIQUES

SUR

LES INFECTIONS D'ORIGINE OTIQUE

PRÉSIDENT : M. GRANCHER, professeur.

MM. PANAS, professeur.

JUGES. . { BRUN, } agrégés.
 { MARFAN, }

PARIS

GEORGES CARRÉ ET C. NAUD, ÉDITEURS

3, RUE RACINE, 3

1898

620

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1898

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le jeudi 21 juillet 1898, à 1 heure

PAR

Édouard RIST

INTERNE DES HOPITAUX DE PARIS

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE M. LE PROFESSEUR GRANCHER

ÉTUDES BACTÉRIOLOGIQUES

SUR

LES INFECTIONS D'ORIGINE OTIQUE

PRÉSIDENT : **M. GRANCHER**, professeur.

MM. PANAS, professeur.

JUGES. . { **BRUN**, } agrégés.
 { **MARFAN**, }

PARIS

GEORGES CARRÉ ET C. NAUD, EDITEURS

3, RUE RACINE, 3

1898



FACULTÉ DE MEDECINE DE PARIS

	Doyen..	M. BROUARDEL.
	Professeurs..	MM.
Anatomie..		FARABEUF.
Physiologie..		CH. RICHET.
Physique médicale..		GARIEL.
Chimie organique et chimie minérale..		GAUTIER.
Histoire naturelle médicale..		BLANCHARD.
Pathologie et thérapeutique générales..		BOUCHARD.
Pathologie médicale..		{ HUTINEL.
		{ DEBOVE.
Pathologie chirurgicale..		LANNELONGUE.
Anatomie pathologique..		CORNIL.
Histologie..		MATHIAS DUVAL.
Opérations et appareils..		TERRIER.
Matière médicale et Pharmacologie..		POUCHET.
Thérapeutique..		LANDOUZY.
Hygiène..		PROUST.
Médecine légale..		BROUARDEL.
Histoire de la médecine et de la chirurgie..		LABOULBENE.
Pathologie comparée et expérimentale..		CHANTEMESSE.
		{ POTAIN.
Clinique médicale..		{ JACCOUD.
		{ HAYEM.
		{ DIEULAFOY.
Clinique des maladies des enfants..		GRANCHER.
Clinique des maladies syphilitiques..		FOURNIER.
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale..		JOFFROY.
Clinique des maladies nerveuses..		RAYMOND.
		{ BERGER.
Clinique chirurgicale..		{ DUPLAY.
		{ LE DENTU.
		{ TILLAUX.
Clinique ophtalmologique..		PANAS.
Clinique des voies urinaires..		GUYON.
Clinique d'accouchements..		{ BUDIN.
		{ PINARD.

Agrévés en exercice.

MM.	MM.	MM.	MM.
ACHARD.	GAUCHER	MARIE	SEBILEAU.
ALBARRAN.	GILBERT.	MENETRIER.	THIERY.
ANDRE.	GILLES DE LA	NELATON.	THOINOT.
BAR.	TOURETTE.	NETTER.	TUFFIER.
BONNAIRE.	GLEY.	POIRIER, chef des tra-	VARNIER.
BROCA.	HARTMANN.	vaux anatomiques.	WALTHER.
CHARRIN.	LEJARS.	RETTERER.	WEISS.
CHASSEVANT.	LETULLE.	RICARD.	WIDAL.
DELBET.	MARFAN.	ROGER.	WURTZ.

Secrétaire de la Faculté : M. Ch. PUPIN.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON PÈRE
LE DOCTEUR ADRIEN RIST

Je dédie ce modeste travail.

5 juillet 1898.

M. le P^r GRANCHER, qui nous fait aujourd'hui l'honneur de présider notre thèse, nous a accueilli, dès le début de notre internat, dans son beau laboratoire des Enfants-Malades, et il en a mis toutes les ressources à notre disposition. Qu'il nous permette de lui exprimer ici notre profonde reconnaissance.

Nous sommes redevable de toute notre éducation clinique à M. le D^r RENDU, dont nous avons eu le rare privilège d'être successivement le stagiaire, l'externe, et enfin l'interne. Nous ne saurions dire le respect et le dévouement que ces trois années nous ont inspiré pour sa science et son caractère. Tous ceux qui l'ont approché savent combien un tel maître fait aimer la médecine, et de quel point de vue élevé il l'envisage.

M. le D^r BABINSKI, auprès duquel nous avons passé une année d'internat, nous a témoigné une grande bienveillance et nous a rendu extrêmement attrayante l'étude de la neuropathologie.

A M. le D^r BRUN, nous devons ce que nous savons de chirurgie infantile : l'indulgence dont il a fait preuve à notre égard pendant notre internat dans son service, l'intérêt si actif qu'il a bien voulu nous témoigner en plus d'une occasion, ont éveillé en nous des sentiments

que nous craignons de ne pouvoir exprimer que bien faiblement.

M. le D^r E. BESNIER, avec une affectueuse sollicitude, s'est appliqué à éveiller notre intérêt pour la dermatologie. Nous n'oublierons jamais le temps trop court que nous avons passé auprès de ce maître éminent. Après lui, M. le D^r DARIER nous a fait largement profiter, à l'hôpital Saint-Louis, de sa science clinique et anatomique. Ses conseils amicaux et la sympathie si cordiale qu'il n'a cessé de nous témoigner nous ont attaché à lui par des liens de profonde reconnaissance.

Nous remercions aussi M. le D^r Jules SIMON qui nous a accueilli durant notre première année d'internat, et nous a permis d'user de toutes les ressources de son beau service.

Que MM. les D^{rs} LANCEREAUX, GÉRARD-MARCHANT, ROUTIER, RICARD et MOREL-LAVALLÉE veuillent bien être assurés de toute notre reconnaissance. Nous tenons aussi à exprimer notre gratitude à MM. les P^{rs} A. GAUTIER et FARABEUF qui nous ont ouvert leurs laboratoires au début de nos études médicales, à M. le D^r LEDOUX-LEBARD, chef de laboratoire à l'hôpital des Enfants-Malades, et tout particulièrement à M. le D^r É. SUCHARD qui, par ses affectueux conseils, a dirigé nos études, et auprès de qui nous avons recueilli, au Collège de France comme à la Charité, un enseignement anatomique inappréciable.

M. le D^r Roux, dont nous avons suivi les magistrales leçons à l'institut Pasteur, nous a donné à plusieurs reprises, des marques d'intérêt et de sollicitude que

nous considérons comme un grand honneur. Qu'il veuille bien voir en nous un élève reconnaissant et dévoué.

Nous ne savons comment remercier M. le P^r PROUST pour la sympathie si active qu'il nous a témoignée.

Notre ami A. VEILLON, préparateur au laboratoire de M. GRANCHEB, s'est montré pour nous un maître si affectueux, si patient, si ingénieux, que nous ne saurions exprimer même une faible partie des sentiments que nous éprouvons pour lui, et que son amitié a depuis longtemps devinés.

Il nous reste enfin à remercier cordialement notre excellent ami J. HALLÉ pour l'exécution de la planche qui accompagne ce travail. Sa bonne amitié, ainsi que celle de nos chers collègues ZUBER, J. AUCLAIR et GUILLEMOT, nous fera conserver de nos années de laboratoire un bien agréable souvenir.

INTRODUCTION

Nous n'avons pas eu la prétention de donner, dans le travail qu'on va lire, un résumé synthétique des connaissances actuelles sur la bactériologie des suppurations de l'oreille et des complications qui en dérivent. La littérature médicale est fort riche en publications sur ce sujet, et il ne nous a été possible d'en parcourir qu'une faible partie. Si quelques régions de ce domaine ont été explorées d'une manière que l'on peut croire définitive, il en reste d'autres que nous connaissons fort mal encore. Beaucoup des notions admises aujourd'hui sur les infections d'origine otique se fondent sur des faits insuffisamment étudiés, sur des constatations mal interprétées. Nous avons tenté, dans les recherches exposées au cours de ces pages, de contribuer à jeter quelque lumière sur certains points obscurs d'un sujet, dont l'étude est loin d'être épuisée. Ces recherches n'ont porté que sur un nombre assez restreint de cas, fort disparates en apparence. On verra que la nature même des méthodes employées limitait forcément le champ de nos investigations. Tels qu'ils sont, les faits

— nouveaux, croyons-nous — que nous apportons, paraissent présenter un intérêt suffisant, tant au point de vue de la chirurgie auriculaire et crânienne, qu'à celui de la pathologie générale, pour légitimer leur publication et les quelques conclusions que nous en voudrions tirer.

Il faut donc tout d'abord que nous nous expliquions sur l'idée directrice de cette étude :

Au cours de notre première année d'internat, dans le service de M. le D^r Jules Simon, à l'hôpital des Enfants-Malades, nous avons pu observer un grand nombre d'écoulements d'oreille purulents chroniques. Nous n'avons pas à refaire ici l'histoire clinique de ces écoulements, si fréquents dans le jeune âge, et si peu redoutés des parents. En règle générale, ils succèdent à des otites moyennes aiguës survenues sous l'influence d'une maladie infectieuse : grippe, rougeole, scarlatine, diphtérie, coqueluche, angine, etc. Une fois le tympan perforé, une otite chronique purulente s'installe et se perpétue, grâce à l'incurie et parfois aux préjugés de l'entourage.

Dans la clientèle hospitalière, le nombre des enfants atteints de cette infirmité est considérable. Les uns finissent par guérir, avec ou sans altérations persistantes de l'ouïe ; les autres conservent presque indéfiniment leur otorrhée. D'autres enfin sont atteints de complications infectieuses d'une extrême gravité, dont la plus fréquente est la mastoïdite : les méningites suppurées, les abcès cérébraux ou cérébelleux, les phlébites des sinus sont même le plus ordinairement secondaires

à la mastoïdite. Qu'il y ait eu ou non les signes cliniques d'une phlébite sinusienne ou jugulaire, on peut observer des accidents témoignant d'une infection sanguine, polyarthrites suppurées, abcès et phlegmons à distance, foyers métastatiques pulmonaires, etc.,

Les suppurations de l'appareil auditif peuvent donc donner naissance à une véritable septicémie, que traduisent ces diverses métastases et l'ensemble des phénomènes généraux.

Dans ces septicémies d'origine otique, si rapidement graves, et parfois foudroyantes dans leur évolution, il est quelques particularités qui permettent de se demander si elles ne sont pas d'une nature spéciale. Remarquons d'abord que, pareil à celui de l'otorrhée chronique, le pus des mastoïdites, des abcès encéphaliques, etc., possède dans un grand nombre de cas, une fétidité extrême. Notée par beaucoup d'auteurs, elle n'a pas encore reçu, croyons-nous, toute l'attention qu'elle mérite. Elle nous a paru comporter, presque toujours, un pronostic sévère; en tous cas, elle n'est pas un apanage des suppurations communes.

Dans un cas de mastoïdite fétide, nous avons pu observer un phlegmon diffus à point de départ mastoïdien, phlegmon à marche suraiguë qui envahit en quelques heures toute une moitié du dos, et à l'ouverture duquel nous constatâmes la présence d'une sérosité putride contenant des gaz. Là encore, il ne pouvait s'agir d'une infection banale; nous étions en présence d'un processus gangréneux tout spécial, et il était permis de se demander s'il n'était pas sous la dépendance

du facteur étiologique qui produisait la fétidité de la suppuration mastoïdienne.

Enfin, les métastases pulmonaires, observées au cours des septicémies d'origine otique ont, elles aussi, presque toujours, un caractère gangréneux des plus nets. Cette forme de gangrène pulmonaire, à foyers circonscrits et disséminés, est beaucoup plus fréquente qu'on ne le suppose généralement, et les autopsies des services chirurgicaux de l'hôpital des Enfants-Malades nous en ont fourni de nouveaux exemples. Souvent, cette complication demeure insoupçonnée pendant la vie ; l'odeur fétide de l'haleine, plus rarement des crachats — nos observations ont porté presque toutes sur des enfants, qui, on le sait, n'expectorent guère — peut seule la faire prévoir. Mais il est tout à fait exceptionnel que la percussion et l'auscultation permettent d'en localiser les foyers.

Frappé par la fréquence de la fétidité dans les suppurations chroniques de la caisse, dans les mastoïdites, qui les viennent compliquer, dans les abcès encéphaliques d'origine otique, frappé aussi par le caractère presque constamment gangréneux des embolies pulmonaires, — nous nous sommes demandé si ces septicémies ne reconnaissent pas des agents pathogènes encore ignorés. Pouvait-on trouver, dans la nature et les particularités biologiques des microorganismes générateurs de ces infections, une explication satisfaisante de leur caractère spécial, de leur marche clinique et des lésions anatomiques qu'elles produisent ? Les auteurs ont attribué généralement la fétidité des otorrhées à

des bactéries saprogènes, telles que le proteus, auxquelles ils n'attribuent aucun rôle pathogène. Mais on pouvait se demander si tous les microbes de ces supurations étaient susceptibles de pousser sur les milieux nutritifs artificiels ordinairement employés, si on les avait tous isolés et étudiés. On a dit d'autre part que les bactéries ordinaires de la suppuration, streptocoque, staphylocoques, etc., étaient capables, dans certaines circonstances, de provoquer la gangrène, et on leur a fait jouer un rôle important dans l'étiologie de la gangrène pulmonaire en particulier. Mais, en somme, la question est demeurée fort obscure, et l'on n'est pas encore parvenu, que nous sachions, à reproduire expérimentalement la gangrène pulmonaire par le moyen des pyogènes vulgaires.

L'idéal, pour l'étude que nous nous proposons de faire, eût été de pouvoir examiner, au point de vue bactériologique, chez un même sujet, l'otite moyenne aiguë du début, puis l'otite chronique suppurée consécutive, puis encore la mastoïdite survenue au cours de cette otite chronique, et enfin les diverses complications qui en pouvaient naître, abcès encéphaliques, méningites, phlébite des sinus, abcès ou arthrites métastatiques, foyers de gangrène pulmonaire, etc. On eût ainsi tenu tous les chaînons de l'infection. Mais on voit tout de suite ce que cet idéal a d'irréalisable. Le plan rationnel d'une investigation complète de ce domaine devait donc comporter l'examen bactériologique d'un nombre aussi considérable que possible de chacun des groupes de faits suivants :

- a) Otites moyennes aiguës suppurées.
- b) Otites chroniques suppurées.
- c) Mastoïdites aiguës.
- d) Méningites, abcès encéphaliques d'origine otique.
- e) Abcès et arthrites métastatiques d'origine otique.
- f) Foyers de gangrène pulmonaire d'origine otique.

En comparant les résultats obtenus pour chacun de ces groupes, on pouvait espérer se faire une idée d'ensemble sur la nature de ces infections. C'est bien là en effet, le plan que tout d'abord nous nous sommes proposé de suivre. Mais nous avons été arrêté dès le début par des difficultés qui nous obligèrent à limiter nos recherches.

Ainsi, nous avons cru devoir passer outre à l'étude des otites moyennes aiguës. Il importe, en effet, en pareille matière de n'accueillir que les cas où l'on peut être assuré de réaliser toutes les conditions de la pureté bactériologique la plus rigoureuse. Il fallait donc pouvoir prendre le pus au moment même de la paracentèse du tympan; ou encore à l'instant où se fait la perforation spontanée, sous peine d'ensemencer des germes venus du conduit auditif externe. Dans le milieu hospitalier où nous avons recueilli nos cas, la paracentèse du tympan ne se pratique guère. Au reste, chez l'adulte comme chez l'enfant, la perforation spontanée est la règle, et elle se produit souvent à l'insu de l'entourage, au moment où on la prévoit le moins. Ajoutons que les otites moyennes aiguës constituent certainement l'une des affections auriculaires les mieux étudiées au point de vue bactériologique.

Quant aux otorrhées purulentes chroniques, on en rencontre tous les jours à l'hôpital des Enfants-Malades, et ce n'est pas le matériel d'étude qui nous a manqué.

Il en est de même pour les mastoïdites aiguës. Notre maître, M. le Dr Brun, pendant et après le séjour que nous avons fait chez lui comme interne, a bien voulu nous confier l'examen bactériologique de toutes les mastoïdites qu'il a trépanées. M. le Dr Broca, que nous tenons à remercier ici de sa bienveillance, nous a fait remettre également, pendant une année, des pipettes contenant du pus de ses petits opérés. Nous avons pu faire aussi plusieurs autopsies d'enfant ayant succombé à des mastoïdites compliquées dans le service de M. le Dr Brun, et recueillir nous-mêmes les produits pathologiques à examiner.

Notre ami Veillon, qui a entrepris au laboratoire de M. le Pr Grancher, une série de recherches sur les suppurations fétides et gangréneuses, a bien voulu guider nos recherches et nous faire profiter de sa grande expérience. Il nous a enseigné les techniques nouvelles qu'il a inaugurées pour l'étude de ces cas si complexes. C'est sous sa direction constante que nous avons travaillé, et c'est grâce à ses conseils que nous avons pu faire une part importante, dans nos investigations, à l'étude d'une classe de microorganismes que l'on n'avait pas songé jusqu'ici à rechercher dans les suppurations d'origine otique — nous voulons parler des *anaérobies*.

Lorsqu'on examine au microscope une préparation colorée provenant d'une mastoïdite aiguë ou d'une

otorrhée fétide, on est frappé du nombre colossal de microorganismes qui s'y trouvent et de la variété extrême de leur aspect morphologique. Bacilles, filaments, spirilles, spirochaetes, cocci s'y rencontrent en amas serrés, et, contrairement à ce qu'on voit dans les suppurations ordinaires, les cellules du pus sont en très petite quantité. Veillon et Zuber qui ont constaté le même fait dans diverses suppurations fétides, et en particulier dans les appendicites, disent qu'on y voit une « véritable purée de microbes ». Et c'est en effet la seule expression qui puisse caractériser exactement l'aspect de ces préparations.

Si l'on sème ce pus sur le milieu le plus ordinairement employé pour les cultures — la gélose en surface — on remarque qu'il y a une disproportion énorme entre l'abondance des microorganismes dans le pus, et le petit nombre des colonies qui se développent. On en conclut nécessairement que la grande majorité des bactéries n'a pas donné de colonies. Quelquefois même la gélose ensemencée demeure absolument stérile. Dans les cas où des colonies se développent, on voit qu'elles sont composées généralement de microbes vulgaires : streptocoque, staphylocoques, pneumocoque, proteus ou coli-bacille, mais que la plupart des formes observées dans le pus ne sont pas représentées dans les tubes de culture.

Qu'est-ce donc qui empêche la plupart des microorganismes contenus dans ces pus de se développer ? L'expérience montre que si, au lieu de faire uniquement des ensemencements sur des milieux au contact de

l'air, on sème ces pus dans des milieux privés d'oxygène, il se produit, dans les conditions ainsi réalisées de l'anaérobiose, un développement extrêmement abondant de microbes, et qu'on retrouve alors dans les cultures la plupart des variétés morphologiques observées dans le pus. Cette remarque nous a conduits à faire toujours des cultures anaérobies parallèlement aux cultures aérobies. Mais, comme on le verra au chapitre technique, la séparation des microorganismes anaérobies en vue de leur étude en culture pure, ne peut se faire sans l'emploi de méthodes fort longues et fort délicates. Il est rare que dans un même pus otique, on trouve une seule espèce anaérobie; bien souvent on en rencontre cinq ou six, parfois une dizaine. L'étude de chaque cas est, par conséquent, prolongée d'une manière considérable. Elle exige, en général, plusieurs semaines, et il est presque impossible d'étudier simultanément plusieurs cas. De plus, la délicatesse des méthodes employées et la fragilité de certaines espèces fait que l'on ne peut souvent pousser jusqu'au bout l'étude d'un cas donné.

Aussi n'avons-nous pu, en fin de compte, réunir qu'un nombre assez restreint de faits — auxquels, avec une extrême obligeance, MM. Veillon et Zuber ont bien voulu me permettre de joindre trois cas, dont deux inédits, qui leur appartiennent.

Mais quelques faits typiques, étudiés d'une manière complète, peuvent donner, croyons-nous, une idée plus juste en pareille matière, que des statistiques étendues. Nos recherches nous ont conduit à une conception que

nous croyons conforme à la réalité. Toutefois, nous sommes loin d'avoir réalisé le plan d'études que nous esquissions plus haut. Il faudrait, pour y parvenir, de nombreuses investigations complémentaires. Nous n'avons pu y apporter, dans ce travail, qu'une simple contribution.

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

Les travaux que l'on a publiés sur la bactériologie des suppurations d'origine otique sont extrêmement nombreux, et nous possédons, en particulier pour ce qui concerne les otites moyennes aiguës, une série de faits et de documents dont plusieurs ont une grande valeur. Les mémoires de Netter et de Zaufal, pour ne citer que les plus importants, ont fixé, d'une manière, croyons-nous, définitive, le rôle étiologique de certains microorganismes dans les suppurations aiguës de la caisse et leurs complications. Nous ne saurions énumérer toutes les observations que l'on a fait paraître sur ce sujet, et qui, pour la plupart, confirment les idées que ces deux auteurs ont émises les premiers.

On verra, dans ce résumé historique de la question, que les suppurations chroniques de la caisse et les complications qu'elles déterminent ont été moins bien étudiées, et par de moins habiles expérimentateurs. Le nombre des travaux est, ici encore, considérable, mais leur valeur est certainement moindre. Quant au problème des septicémies d'origine otique, il est de date

relativement récente. Il a été abordé surtout au point de vue anatomique et pathogénique; le côté bactériologique a été quelque peu délaissé, sans doute parce que l'on considérait comme acquis les résultats fournis par les recherches antérieures sur les otites aiguës ou chroniques. Or ces septicémies sont rarement consécutives à des otites aiguës; elles compliquent le plus souvent des otorrhées anciennes, et la flore bactériologique de ces dernières affections est loin d'être bien connue à l'heure actuelle.

Loewenberg (1), en 1881, est le premier qui ait constaté la présence de microbes dans les affections de l'oreille, — sans oser, toutefois, se prononcer sur leur rôle étiologique. La science bactériologique en était alors à ses débuts; et il faut arriver jusqu'en 1887 pour rencontrer les premiers examens de pus d'otite moyenne aiguë, pratiqués d'une manière rigoureuse : *Zaufal* (2), de Prague, publia cette année-là deux cas de suppuration aiguë de la caisse; dans l'un, l'examen bactériologique révéla la présence du pneumocoque pur, constatée par les colorations de pus et par les cultures. Dans l'autre, se trouvait le pneumo-bacille encapsulé de Friedländer; mais il n'est pas absolument prouvé que ce microbe existât en culture pure. *Zaufal* remarqua de plus que le pneumocoque retiré de son premier cas

(1) *Zeitschrift f. Ohrenheilkunde*, 1881.

(2) *ZAUFAL*. Mikroorganismen im Secrete der Otitis media acuta. *Prager medicinische Wochenschr.*, 6 juillet 1887.

possédait une virulence atténuée et qu'il ne tuait pas la souris. Mais, il n'hésita pas à attribuer l'éclosion de la maladie à la présence des microorganismes isolés par lui.

Presque en même temps, *Netter* (1) démontrait l'existence de méningites pneumococciques consécutives à des otites aiguës à pneumocoque. Un nouveau cas de Zaufal (2), paru la même année, confirma l'existence de l'otite aiguë à pneumocoque. Enfin, en octobre 1888, *Netter* (3) publia son important mémoire sur la bactériologie des otites moyennes aiguës. « L'otite moyenne aiguë, dit-il, n'est pas une maladie unique, toujours due au même microorganisme. Il y a plusieurs espèces d'otites, ayant chacune un microbe particulier. Chacune de ces otites présente des caractères spéciaux, qui tiennent aux propriétés des microbes qui leur ont donné naissance. » Et il établit quatre types :

1) *L'otite à streptocoques*, la plus fréquente et la plus grave, fréquemment double, peut être primitive ou secondaire à une maladie infectieuse (fièvre typhoïde, rougeole, diphtérie, etc.). Elle est susceptible de se compliquer d'abcès sous-cutanés, de suppurations mastoïdiennes, de méningites suppurées, de phlébite des

(1) NETTER. De la méningite due au pneumocoque, avec ou sans pneumonie. *Arch. gén. de médecine*, mars-juillet 1887.

(2) ZAUFAL. Weitere Mittheilungen über das Vorkommen von Mikroorganismen im Secrete der Otitis media acuta (genuina). *Prag. medic. Wochenschr.*, 22 février 1888.

(3) NETTER. Recherches bactériologiques sur les otites moyennes aiguës. *Ann. des mal. de l'or. et du lar.*, octobre 1888.

sinus, de pyohémie. Ces complications sont directement imputables au streptocoque.

2) L'*otite à pneumocoques*, qui survient au cours d'une pneumonie, ou vient compliquer une maladie générale, ou bien encore existe à l'état de maladie isolée. Elle peut provoquer des méningites par propagation de l'infection; elle peut aussi créer des métastases pneumococciques par infection sanguine.

3) L'*otite à bacilles de Friedländer* dont il n'existe que le cas douteux de Zaufal.

4) L'*otite à staphylocoques*.

Le travail de Netter contient plusieurs observations d'otites aiguës où le streptocoque ou le pneumocoque se trouvaient à l'état pur. Mais, il constate aussi que souvent ces infections peuvent être polymicrobiennes. Sur 11 cas à streptocoque, ce microorganisme se trouvait pur 4 fois seulement. Dans 4 cas, il était associé à des bâtonnets très fins donnant naissance à des colonies opalines à développement très rapide : ce bacille, dit l'auteur, « paraît en rapport avec la transformation putride du liquide purulent, et développe une odeur fétide dans les milieux de culture ». Dans 3 autres cas, on trouvait, outre le bâtonnet et le streptocoque, le staphylococcus pyogenes aureus. Pour les otites à pneumocoque, Netter remarque aussi qu'il peut y avoir coexistence d'autres microorganismes.

Enfin, le staphylocoque ne se trouverait jamais à l'état de pureté; sur 4 cas, l'auteur l'a trouvé trois fois associé au streptocoque, une fois au pneumocoque. Selon lui, il ne jouerait qu'un rôle secondaire; il ne

paraît dans l'exsudat qu'à une date relativement éloignée du début, et ne se retrouve pas dans les lésions éloignées de l'oreille et consécutives à l'otite.

Ainsi, dès cette époque, Netter avait vu que les microbes pyogènes sont souvent associés à d'autres bactéries auxquelles il attribue même l'odeur fétide de certains exsudats. Mais il limite le rôle pathogène aux pyogènes. Il cite même à ce sujet une observation recueillie dans le service de M. Duguet, qui nous paraît particulièrement intéressante. Il s'agit d'une infection purulente consécutive à une otite à streptocoques. Le malade avait eu, au cours de son affection, de la *gangrène pulmonaire* constatée pendant la vie par l'odeur de l'expectoration et les signes physiques thoraciques, et retrouvée à l'autopsie. « Nous avons fait, dit Netter, l'examen bactériologique du pus de l'oreille, des coagulations dans les branches de l'artère pulmonaire, du foyer pulmonaire, du liquide de la plèvre droite, du sang du cœur gauche. Les cultures nous révélèrent l'existence de streptocoques pyogènes dans ces divers points, comme l'avait déjà fait l'examen microscopique. Le sang du cœur ne renfermait pas d'autres microorganismes. Dans le pus de l'oreille, dans le foyer pulmonaire, on trouvait de plus le staphylococcus pyogenes aureus, accompagné de deux variétés de bacille, l'un mince et court, l'autre gros et plus long. La présence du streptocoque à l'état de pureté dans le sang du cœur prouve que c'est à ce microbe qu'il faut attribuer les accidents d'infection générale. »

Il ne paraît pas, d'après cette citation, que les deux

variétés de bacille aient été obtenues en culture pure, à plus forte raison qu'il ait été pratiqué desensemencements anaérobies. Nous croyons que ce cas serait susceptible aujourd'hui d'une interprétation différente.

Netter termine son mémoire en établissant que les microbes pathogènes (pneumocoque, streptocoque ou staphylocoques) arrivent dans l'oreille par la trompe d'Eustache, et qu'ils proviennent de la bouche dont ils sont les habitants normaux.

Weichselbaum (1) soutient une opinion analogue. Sur cinq cas de méningite cérébro-spinale étudiés par lui, quatre étaient consécutifs à une otite moyenne à pneumocoque. Le microbe pathogène serait venu selon lui du nez dans l'oreille par l'intermédiaire des trompes. Mais en analysant ses observations, on en trouve deux où le pneumocoque ne paraît pas avoir été rencontré à l'état de pureté. Dans le cas n° II, en effet, il a remarqué dans l'exsudat otique, de nombreuses autres formes bactériennes, et en particulier des bacilles. Il explique le fait en disant que l'examen a été tardivement pratiqué (36 heures après la mort). Il semble que sur ses plaques, le pneumocoque seul ait poussé. De même, dans le cas n° III (otite moyenne, méningite, purpura hémorragique), il y avait, sur lamelles, outre le pneumocoque, de nombreux bacilles. Sur ces plaques, il trouvait le

(1) WEICHSELBAUM. Ueber seltene Localisationen des pneumonischen Virus (diplococcus pneumoniae). *Wiener klin. Wochens.*, 1888, n°s 28 et 32.

pneumocoque, le staphylocoque doré et des colonies indéterminées. L'exsudat méningé m'a donné en cultures que du pneumocoque. L'odeur du pûs n'est mentionnée dans aucun des cas.

Les observations de *Moos* (1) à peu près contemporaines, ne sont pas plus probantes. Il relate, en effet, trois cas de mastoïdite. Dans le premier (diabète, otite moyenne purulente chronique droite, mastoïdite, opération de Wilde, guérison), il note sur ses lamelles de nombreux streptocoques et des diplocoques encapsulés, qu'il considère comme des pneumocoques de Fränkel, parce qu'ils gardent le Gram. Mais il publie en même temps une figure, où l'on voit, à côté des cocci, un long bacille et un streptobacille. Il n'a pas pratiqué de cultures, non plus que dans le deuxième cas où il trouve des streptocoques et des diplocoques (otite moyenne aiguë; incisions répétées de la membrane du tympan; mastoïdite au bout de sept semaines; opération de Wilde, guérison). Le troisième cas est moins bien étudié encore. Il s'agit d'une otite moyenne purulente chronique gauche, compliquée de polype et de choléstéatome, puis de carie du rocher, suivie d'accidents graves, rapidement mortels: thrombose septique dans le sinus de la veine jugulaire, méningite basilaire purulente, abcès cérébelleux. Moos s'est contenté d'examiner le choléstéatome au

(1) Moos. Zur bakteriellen Diagnostik und Prognostik der Mittelohreiterungen. *Deutsche medic. Wochens.*, 1888, 1^{er} novembre, n^o 44.

point de vue bactériologique; il y a trouvé de nombreux streptocoques, sans doute aussi par le simple examen sur lamelles, et il en conclut que c'est ce microorganisme qui est la cause de l'infection. Dans aucun des trois cas l'odeur du pus n'est notée.

On voit que, si les examens de Netter et de Zaufal établissent d'une manière irréfutable l'existence de l'otite moyenne aiguë à pneumocoque ou à streptocoque, les cas où ces organismes se rencontrent à l'état pur sont en somme assez rares, et que les microbes qui peuvent leur être associés n'ont pas été suffisamment étudiés. Les cas de Moos, où il n'a pas été fait de cultures, et où l'existence des bacilles est passée sous silence dans le texte, n'ont évidemment aucune valeur.

Zaufal (1) en 1889, publia six nouveaux cas d'otite à pneumocoque. Il insista sur la nécessité de pratiquer toujours l'examen microscopique, les cultures et les inoculations, avant de faire un diagnostic bactériologique. Il reproduisit expérimentalement chez l'animal des otites moyennes aiguës en leur injectant dans l'oreille moyenne, à travers le tympan, des cultures pures de pneumocoque. Puis il apporta encore 13 nouveaux cas d'otite moyenne aiguë dont 7 à pneumocoques et 5 à streptocoques. Quatre cas d'otite pneumococcique étaient compliqués de mastoïdite; l'examen sur lamelles paraît démontrer que le pneumocoque existait seul.

(1) ZAUFAL. Neue Fälle von genuiner acuter Mittelohrentzündung veranlasst durch den Diplococcus pneumoniae A. Fraenkel-Weichsebaum. *Prag. medic. Wochens.*, 1889, n^{os} 6 et 12.

Pour un de ces cas, il note que le pus n'était pas fétide. Quatre cas aussi d'otite streptococcique étaient compliqués de mastoïdite ; le streptocoque était pur ; le pus n'était pas fétide. Zaufal attache un pronostic souvent sérieux aux otites à streptocoque, à cause de la tendance qu'elles ont à se compliquer de septicémie et de pyopémie.

Enfin, il aborde le problème des otorrhées chroniques. Dans une précédente publication il avait attribué à l'infection secondaire par le staphylocoque le passage à la chronicité. Il suppose maintenant que « *dans les otorrhées chroniques à sécrétion fétide, il y a probablement d'autres microbes encore inconnus, dont il faudra tenir compte, et parmi lesquels il faudra distinguer les pathogènes des saprogènes* ». Inoculant le pus d'une otorrhée chronique à la souris et au lapin, il trouve un bacille non liquéfiant, perdant le Gram, donnant sur les milieux solides des cultures chatoyantes, et extrêmement pathogènes pour la souris et le lapin. Mais il ne paraît pas en avoir poursuivi l'étude.

Déjà Rohrer (1) de Zürich avait remarqué que le pus des otorrhées chroniques contenait des microbes différents de ceux qu'on voit dans les otites aiguës. Résumant l'examen des sécrétions purulentes de 100 malades atteints d'affections de l'oreille moyenne, il disait : « Dans les sécrétions fétides, j'ai toujours trouvé des

(1) ROHRER. Ueber die Pathogenität der Bakterien bei eitrigen Processen des Ohres. *Deutsche medic. Wochens.*, 1888, n° 44, 1^{er} novembre.

cocci et des *bacilles* ; dans les sécrétions non fétides, il n'y avait jamais que des *cocci*. Les sécrétions des cas aigus ne contenaient de bacilles que lorsqu'ils étaient déjà devenus fétides. »

Mais il ne dit rien sur les cultures, et ne paraît avoir différencié ses formes qu'au point de vue morphologique. Il divise simplement les *cocci* en monocoques, diplocoques, streptocoques et staphylocoques. Quant aux bacilles, il les classe d'après leur longueur. « L'inoculation des cultures et des émulsions de pus, dit-il, prouva jusqu'à l'évidence que les formes bacillaires n'étaient pas pathogènes, mais que les bacilles prennent part, en tant que saprophytes, à la décomposition putride du pus otique. »

De même *Bordoni-Uffreduzzi et Gradenigo* (1) attribuent l'odeur fétide des otorrhées chroniques au proteus vulgaris de Hauser qu'ils ont trouvé dans quatre cas. Mais ils attribuent tout le rôle pathogène dans les otites moyennes aiguës ou chroniques au pneumocoque seul ou associé aux autres microbes pyogènes. Les cas où on trouverait les autres pyogènes sans le pneumocoque seraient plus rares.

En 1890, paraît un travail consciencieux de *Kanthack* (2) qui étudie 75 cas réunis sous les chefs suivants : otites moyennes aiguës, otites moyennes chro-

(1) BORDONI-UFFREDUZZI et GRADENIGO. Sull' etiologia dell' otite media. *Archivio per le Sc. med.*, vol. XIV, n° 12.

(2) A. A. KANTHACK. The bacteriology of some inflammatory processes of the middle ear and the mastoid cells. *Arch. of otol.*, 1890, n° 1, p. 25.

niques, suppurations de l'apophyse mastoïde, exsudations de la cavité tympanique (otites catharrales). Il s'est servi, pour la prise du matériel d'ensemencement de la méthode de Zaufal qui nettoyait au sublimé, l'oreille, le méat et la joue. Il a pu, au cours de paracentèses du tympan, recueillir directement le pus au moyen d'une aiguille de platine stérile. Le liquide était aussitôt semé dans de petits tubes de bouillon; au laboratoire cette dilution était portée sur agar, sur bouillon, sur plaques de gélatine, tandis que le tube de bouillon primitif servait à des inoculations à la souris et au cobaye, pour déceler le pneumocoque.

Kanthack ne croit pas, contrairement à Netter, que l'on puisse, suivant les microorganismes observés, distinguer différentes formes d'otite moyenne comportant des pronostics différents. D'accord avec Gradenigo, il trouve souvent, dans les cas aigus, le pneumocoque seul ou associé à d'autres cocci ou bacilles. Dans les cas chroniques vrais, par contre, on ne le rencontrerait jamais. Il n'a pu déterminer combien de temps le pneumocoque persiste dans une otite moyenne aiguë, et au bout de combien de temps il cède la place à d'autres microorganismes plus vivaces.

Dans 33 cas d'otite moyenne aiguë il trouve quatre fois seulement le pneumocoque à l'état de pureté; le plus souvent il est associé aux staphylocoques pyogenes albus, pyogenes aureus ou cereus albus. Souvent les staphylocoques existent seuls, et outre les trois espèces précitées on trouve alors les staphylocoques pyogenes citreus et cereus flavus. Le streptocoque pyogène est

très rare (deux fois seulement) et jamais il n'est pur. Même dans les cas où la membrane du tympan n'est pas perforée, on peut trouver des bacilles saprophytes non pathogènes, venus sans doute du nasopharynx. Kanthack décrit entre autre les saprogènes I et II de Rosenbach, le *proteus vulgaris*, le bacille pyocyaneus et un organisme qu'il intitule *bacillus pyocyaneus X*, « très petit bacille, extrêmement mobile, donnant sur gélatine de petites colonies d'un jaune verdâtre, liquéfiant la gélatine et lui communiquant une coloration verdâtre plus claire que celle du pyocyaneus vrai — non pathogène. »

Sur 12 cas d'otite chronique, il n'en a rencontré qu'un seul où le microbe (saprogène I, de Rosenbach) fût en culture pure. Les autres cas contenaient des staphylocoques et les bacilles saprogènes précités.

Sur 7 cas de suppuration mastoïdienne enfin, une seule fois il s'agissait du pneumocoque en culture pure ; c'était un cas très aigu, où la suppuration mastoïdienne apparut très peu de temps après l'otite moyenne. Dans les six autres cas, les pus, polymicrobiens, contenaient les staphylocoques pyogenes aureus, pyogenes albus et cereus albus, un bacille saprogène, des bacilles indéterminés, une fois seulement le streptocoque pyogène.

Malheureusement Kanthack ne nous donne que le résultat de ses cultures et il ne nous dit pas quelles formes il rencontrait sur ses lamelles. Néanmoins les faits qu'il rapporte sont intéressants ; ils montrent que le streptocoque et le pneumocoque ne jouent pas le rôle prépondérant qu'on croyait au début pouvoir leur

attribuer. Seulement, pour n'avoir pas pratiqué de cultures anaérobies, Kanthack ne trouve, en fait de bacilles, que des saprophytes, et il est conduit naturellement à attribuer le rôle pathogène aux staphylocoques dont plusieurs sont cependant des saprophytes vulgaires.

La même année, *Scheibe* (1) publia une série de cas d'otite aiguë, dont le pus avait été recueilli le plus souvent par paracentèse. Il puisait la sécrétion avec du coton stérile au bout d'un stylet, puis il semait sur plaques de gélatine ou d'agar, en même temps qu'il faisait des préparations colorées. Dans 13 cas d'otite aiguë purulente, les milieux restèrent stériles. L'auteur en accuse l'acide phénique employé pour la désinfection ; « car, dit-il, dans les cas heureux, j'ai souvent observé une diminution de la virulence et de la vitatité du staphylocoque et du streptocoque. » Cela est possible ; mais il est possible aussi que la stérilité des cultures trouve une autre explication ; les pus d'origine otique, ainsi qu'on le verra plus loin, contiennent souvent des cocci anaérobies qui ressemblent beaucoup au streptocoque et au staphylocoque ; disons aussi que le streptocoque que l'on trouve dans les pus de la caisse est souvent le streptocoque de la salive, et qu'il peut être absolument privé de virulence.

Dans 13 autres cas d'otite moyenne aiguë, *Scheibe*

(1) SCHEIBE. Microorganisms in acute middle ear suppurations. *Arch. of Otology*, 1890, n° 2.

a trouvé 7 espèces microbiennes : 4 fois le streptocoque pyogène pur, 1 fois le pneumocoque pur, 2 fois le staphylocoque pyogène blanc pur, 1 fois le streptocoque associé au pneumocoque, 1 fois le streptocoque associé au staphylocoque blanc; 2 fois il a trouvé un coccus qu'il appelle *staphylococcus pyogenes tenuis*, dont les éléments sont généralement beaucoup plus gros que ceux du *staphylococcus pyogenes albus* ou *aureus*, dont la forme est souvent irrégulière, cocco-bacillaire, qui garde le Gram et ne liquéfie pas la gélatine; il ne paraît pas pathogène. Une fois, il a trouvé un *bacillus tenuis*, gros bacille tenant le milieu, pour les dimensions, entre le *bacillus anthracis* et le *bacillus œdematis maligni*, trois fois aussi long que gros, immobile, gardant le Gram, non liquéfiant et non pathogène. Enfin, il a observé aussi un bacille à colonies grises, et un bacille à colonies jaunes, tous deux non liquéfiant.

Dans deux cas, il n'a pu obtenir que des bâtonnets en culture et il fait cette remarque suggestive, que souvent le pus contient au microscope « des coccus ronds, » que l'on ne retrouve plus dans les cultures et qui sont sans doute les agents de la suppuration, alors que les bacilles ne jouent aucun rôle, et sont peut-être originaires du conduit auditif externe. *Cependant, on trouve quelquefois des bâtonnets avant la perforation du tympan*; les bâtonnets peuvent donc se trouver même dans les suppurations non fétides.

Selon Scheibe, le streptocoque pyogène joue un rôle important dans les graves complications de l'otite moyenne chronique; cependant on peut rencontrer le

streptocoque dans des otites moyennes très bénignes. D'autres microbes peuvent causer des complications : le pneumobacille de Friedländer, le pneumocoque, le tétragène, etc.

Ce qui est curieux, c'est que ni Kanthack ni Scheibe n'ont osé aller jusqu'aux conclusions que fatalement devaient imposer leurs recherches. Contrairement aux résultats qu'ils donnent, ils continuent à considérer les cocci pyogènes comme les auteurs responsables de toutes les suppurations d'origine otique. Cette manière de voir se généralisa de plus en plus, et l'insuffisance des techniques employées par beaucoup d'auteurs ne contribua pas peu à la consolider. Ainsi Moos (1), dans un deuxième mémoire, considère comme établi que dans toutes les maladies exsudatives de l'oreille moyenne, purulentes ou non, aiguës ou chroniques, le streptocoque pyogène, les staphylocoques pyogènes (albus, aureus et citreus) et le pneumocoque, jouent le rôle principal. Ce dernier microbe est le plus fragile. Cependant, à l'encontre de Gradenigo et de Kanthack, Moos l'a trouvé 2 fois dans les otorrhées chroniques. Avec Kanthack, il pense que le streptocoque est le plus fréquent. Les trois microbes peuvent se combiner pour constituer des infections complexes. Il en est de même pour les complications des otites, abcès, méningites, pyohémie, mastoïdites surtout. Dans 11 cas de

(1) Moos. Ueber die Beziehungen der Mikroorganismen zu den Mittelohr-
erkrankungen und deren Complicationen. *Deutsche medic. Wochenschr.*,
1891, 12 et 19 mars.

mastoïdites, Moos a trouvé 6 fois le streptocoque, 2 fois le streptocoque associé au staphylocoque, 1 fois un *coccus* associé à des bâtonnets dans la caisse, et le streptocoque dans la mastoïde, 1 fois le streptocoque associé au pneumocoque. Un cas est demeuré négatif. Il en est de même enfin pour les otites chroniques et leurs complications : choléstéatome, carie du rocher, thrombose des sinus, abcès encéphaliques, etc. Sur 18 cas, Moos trouve toujours le streptocoque, 1 fois associé au pneumocoque, 5 fois associé au bacille tuberculeux; « dans les autres cas (au nombre de 11) si nous faisons abstraction des bâtonnets, des mono, diplo et tetracocci, il n'y avait que des streptocoques. » Aucun renseignement ne nous est donné sur la technique. Mais il est difficile d'accorder grande confiance à des examens où l'on fait si résolument abstraction de tout ce qui gêne la théorie courante.

Les otites moyennes aiguës survenues au cours de l'épidémie de grippe de 1889-1890 et de 1891-1892 furent étudiées par divers auteurs. Les uns avec *Scheibe* (1) y trouvèrent des bacilles de Pfeiffer. D'autres, avec *Gradenigo* (2), reconnurent la présence du pneumocoque ou de staphylocoques. Rappelons aussi les quelques cas où l'on trouva le bacille pyocyanique, à l'état pur, paraît-il (*Martha* (3), *Gradenigo* (4), ceux où l'on recon-

(1) SCHEIBE. Influenza bacillen in Otitis media. *München. med. Wochenschr.*, 1892, 14.

(2) GRADENIGO. *Ann. mal. de l'or. et du lar.*, juin 1890.

(3) MARTHA. Note sur 2 cas d'otite moy. purulente, contenant le bacille pyocyanique à l'état de pureté. *Arch. de méd. expér.*, 1892, x.

(4) GRADENIGO. *Giorn. dell' Accad. di med. di Torino*, 1894, n° 2.

nut le bacille d'Eberth au cours d'une fièvre typhoïde, le coli-bacille au cours d'une dysenterie (*Mathias et Grasser*) (1). Ce sont là des raretés, dont la constatation, intéressante à d'autres points de vue, ne saurait faire tirer de conclusions générales au sujet de la bactériologie des suppurations otiques.

Quelques auteurs s'occupèrent aussi du contenu bactérien de la caisse tympanique dans les cadavres des nouveau-nés et des nourrissons. Ainsi *Gradenigo et Penzo* (2) ont trouvé dans 20 cadavres de nouveau-nés des espèces exclusivement saprogènes : divers micrococci (*cereus albus*, *roseus*, *subflavus*, *candicans*, *flavus*) le *diplococcus lactis faviformis*, divers bacilles (*iridescens*, *fluorescens*, *fluorescens putidus*, *luteus*, *flavus tardigravus*, *flavus liquefaciens*, *ureae liquefaciens*). Ils considèrent que leur présence est due simplement à la putréfaction cadavérique.

Kossel (3), dans 188 autopsies d'enfants de moins d'un an a trouvé 35 fois de l'exsudat dans la cavité tympanique. Dans nombre de cas, ce fait doit être considéré comme une complication d'une maladie infectieuse aiguë des voies respiratoires. Les otites avec broncho-pneumonie seraient dues à un bacille très voisin de

(1) MATHIAS ET GRASSER. Otite externe et phlegmon mastoïdien dans le cours d'une dysenterie aiguë. *Arch. de méd. milit.*, 1895, n° 6.

(2) GRADENIGO ET PENZO. Observations bactériologiques sur le contenu de la caisse tympanique dans les cadavres de nouveaux-nés et d'enfants à la mamelle. *Ann. des mal. de l'or. et du lar.*, 1890, août.

(3) *Charité Annalen*, vol. XVIII.

celui de l'influenza, « *pseudo influenza-bacillus* » de Pfeiffer et Kossel. Dans un deuxième groupe de faits, les enfants n'ont pas succombé à des symptômes aigus, mais à l'athrepsie, et l'otite n'intervient alors que comme une complication banale. Dans 4 de ces cas, il y avait eu thrombose des sinus, et, dans un cas, méningite purulente consécutive à l'otite. Trente-huit cas ont été examinés bactériologiquement. Kossel a trouvé 19 fois le pseudo influenza-bacillus, 9 fois en culture pure, 10 fois associé au pneumocoque, 4 fois au streptocoque, 2 fois au pneumobacille de Friedländer, 2 fois au staphylocoque, 1 fois au pyocyanique. Le pneumocoque pur s'est rencontré 6 fois, le pyocyanique et le streptocoque, chacun 3 fois, le Friedländer 1 fois. L'association du pneumocoque au streptocoque n'existait qu'une fois. Trois fois le streptocoque était associé au Friedländer.

Martha (1), dans un long mémoire, rapporte l'examen bactériologique de 50 otites moyennes. Les examens ont porté tantôt sur des lamelles enduites de pus ; tantôt le pus, recueilli antiseptiquement soit dans le conduit auditif externe, soit dans la caisse était semé dans des tubes de gélatine ou de gélose. Enfin de nombreuses inoculations aux animaux ont été pratiquées. Sur 50 malades, Martha a trouvé 27 fois le staphylocoque, 18 fois le streptocoque, 2 fois le pyocyanique, et un grand nombre de saprogènes, tels que le tétragène, le versi-

(1) MARTHA. Des microbes de l'oreille, bactériologie, thérapeutique. Mém. couronné par l'Acad. de méd., 1892. Paris, Steinheil.

color de Flügge, etc. Dans aucun cas, il n'a rencontré le pneumocoque. Certaines otites moyennes ne contiennent que du staphylocoque, alors qu'un simple bouchon cérumineux peut être riche en streptocoques. Dans ces conditions, Martha trouve prématuré de vouloir diviser les otites en otites à streptocoque, à pneumocoque, à staphylocoques, etc. ; car il n'existe pas de formes cliniques bien nettes correspondant à la présence de ces différents microbes. Dans presque tous les cas, l'examen des liquides pathologiques de la caisse a été pratiqué plus ou moins longtemps après la rupture du tympan. Le travail de Martha contient en somme beaucoup de faits qui confirment ceux de Kanthack et de Scheibe. Malheureusement, on n'y trouve pas d'aperçus comparatifs entre le contenu bactérien du pus coloré sur lamelles et le résultat des cultures.

Dans ces dernières années l'attention a été attirée spécialement sur les faits d'infections généralisées consécutives à des otites. *Beco* (1) rapporte l'histoire d'un homme mort en deux mois d'une pyohémie ; le staphylococcus pyogenes albus, trouvé dans le pus d'une otorrhée bilatérale ancienne, existait aussi dans les foyers ostéomyélitiques des épiphyses supérieures des deux tibias. *Legendre et Beaussenat* (2) publient l'obser-

(1) BECO. Otite moyenne suppurée à foyers multiples de suppuration à staphylocoques. *Ann. de la Soc. médico-chirurg. de Liège*, août-septembre 1892, nos 8 et 9.

(2) LEGENDRE et BEAUSSENAT. Infection staphylococcique : otite, méningite et arthrites suppurées, broncho-pneumonie, mort. *Bull. et Mém. de la Soc. méd. des hôp.*, 28 juillet 1892.

vation d'une infection par le staphylocoque doré ; ce microorganisme trouvé dans l'otite initiale avait causé la méningite suppurée, les arthrites suppurées et les foyers de broncho-pneumonie. *Gradenigo* (1) relate un cas de polyarthrite consécutive à une otite moyenne aiguë à streptocoque pyogène. *Martin* (2) aurait trouvé les staphylocoques pyogènes aureus et citreus dans une otite moyenne aiguë suivie de méningite purulente rapidement mortelle. Plus récemment encore *Tuffier* et *Tucker* (3) publient trois cas d'abcès du cerveau consécutifs à des otites moyennes ; trois trépanations furent suivies de succès. *Bruner* (4) décrit un cas de septicémie d'origine otique, avec thrombose des sinus, méningite purulente, abcès rénaux, causés par le bacille de Friedländer.

Dans aucun cas l'odeur du pus n'est notée, et il ne nous est pas donné de renseignements sur la technique employée. L'odeur n'est pas mentionnée non plus dans le cas de *Knapp* (5) où, l'examen du pus d'un abcès cérébral consécutif à une mastoïdite, révèle sur lamelles la présence de beaucoup de cocci et de nombreux petits bacilles. En culture, il ne poussa que des staphy-

(1) GRADENIGO. Un cas de polyarthrite consécutif à une otite moyenne aiguë. *Arch. internat. de rinol.*, août 1893.

(2) MARTIN. *Berlin. klin. Wochensch.*, 5 juin 1893.

(3) TUFFIER et TUCKER. *Bull. de la Soc. anat. de Paris*, mars 1894.

(4) BRUNER, cité par Hartmann. *Arch. of Otology*, 1896, p. 432.

(5) H. KNAPP. A case of the so-called Bezold variety of mastoiditis. Opening of the mastoid. Craniotomy. Death. Autopsy. Abscesses in temporal lobe and cerebellum. Sinus thrombosis on the other side. *Arch. of Otology*, 1892, 3.

locoques blancs et dorés. Dans un tube le staphylocoque était mélangé avec un bacille court.

En général il ne semble pas que la fétidité du pus ait intéressé les bactériologistes qui se sont occupés des affections otiques. Quelques cliniciens cependant ont soupçonné son importance. *H. Gradle* (1) se fonde sur 600 observations d'otorrhée chronique pour dire que le traitement employé n'a aucune influence curative sur la maladie, tant que le pus conserve une odeur fétide. Le premier signe de l'influence curative d'un traitement quelconque sur la cause de l'otorrhée, serait son effet sur l'odeur de la sécrétion.

L. Picqué et *Février* (2) dans une étude sur les abcès intra-crâniens, publiée à la fin de 1892 disent ce qui suit : « Un fait frappe tout d'abord à la lecture des observations, c'est l'ancienneté de l'otite suppurée. Si, dans quelques cas rares, on a vu l'otite aiguë être la source de complications cérébrales, comme dans les faits de Ferrier, de Schmiedt, de Grüber, de Wilson, etc. ; dans l'immense majorité des cas, il en est tout autrement. La forme aiguë de l'inflammation purulente de l'oreille moyenne est très rarement, sinon jamais, dit Barker, la cause de la maladie intra-crânienne... Dans différents cas que nous avons recueillis et où l'ancienneté est mentionnée, nous ne trouvons que 4 cas où la maladie soit de date récente, de 1 à 6 mois. Dans la

(1) H. GRADLE. On the significance of odor of the discharge in the treatment of chronic suppurative otitis. *Arch. of Otolology*, 1892, 2.

(2) L. PICQUÉ et Ch. FÉVRIER. Contribution à l'étude des abcès intra-crâniens d'origine otique. *Ann. des mal. de l'or, et du lar.*, décembre 1892.

majorité des faits, l'affection remontait à 3, 6, 8, 12, 17, 25 ans. Chez un homme, de 30 ans, dont Jansen a rapporté l'observation, l'otorrhée datait de l'enfance, et, par conséquent, remontait peut-être à 30 ans... En parlant des différentes variétés de microbes, nous avons cité les saprophytes que Kanthack a rencontré dans les otites moyennes. Barker, d'après Rohrer, déclare qu'ils ne sont pas pathogènes, et que les suppurations fétides où on les rencontre ne sont pas dangereuses. Il a toujours noté, dit-il, les complications intra-crâniennes les plus dangereuses avec les écoulements de la caisse, dépourvus en totalité ou en partie d'odeur. Il y a là une exagération évidente. D'abord, les saprophytes sont le plus souvent associés au streptocoque; et, quant à admettre que les écoulements fétides ne donnent que rarement lieu à des abcès du cerveau, nous rappellerons, à défaut de preuves bactériologiques, que nombre d'abcès intra-crâniens étaient horriblement fétides, ainsi que Barr l'a constaté. Dans six de nos observations, cette fétidité est expressément notée. Elle était fécaloïde dans l'observation de Watson-Cheyne déjà citée. »

Nous avons tenu à reproduire entièrement cette citation, parce qu'elle montre que Picqué et Février avaient bien vu le rapport qui existe entre la fétidité des otorrhées et la gravité des complications qu'elles déterminent; ils avaient deviné en quelque sorte qu'il y avait là un problème bactériologique intéressant à élucider.

Les nombreux travaux récemment parus en Allemagne sur la septicémie d'origine otique, s'occupent beaucoup de la pathogénèse de l'infection, des voies

anatomiques qu'elle suit, et du traitement opératoire qu'il convient de lui opposer. Brieger, Leutert, Körner, Hessler, Heiman, etc., discutent longuement pour savoir s'il peut y avoir pyémie avec ou sans thrombose des sinus. Aucun de ces auteurs ne se préoccupe de la question bactériologique. Brieger, il est vrai, frappé par les caractères cliniques si spéciaux de ces infections, se demande si elles ne sont pas dues à des microorganismes spéciaux, non encore étudiés; mais, en désespoir de cause, il fait l'hypothèse bizarre que ces septicémies pourraient être dues non à des bactéries, mais à des grégaires. Il ne donne aucun argument, cela va sans dire, à l'appui de cette supposition.

Nous avons déjà cité quelques observations d'examen bactériologiques de ces cas de septicémie, dues à divers auteurs. Nous aurions pu en ajouter un grand nombre d'autres. Mais il est vraiment difficile de se faire une idée générale de la flore de ces infections, en n'ayant pour se guider que des faits où le diagnostic bactériologique est simplement mentionné, sans aucun renseignement sur la technique.

Ce qui se dégage des études récentes, c'est que les septicémies d'origine otique sont plus souvent consécutives à des otites chroniques qu'à des otites aiguës. Mais il est peu d'auteurs qui, à l'exemple de Picqué et Février aient entrevu la gravité spéciale qui s'attache aux suppurations fétides. *Lermoyez* et *Helme* (1) ont tenté

(1) LERMOYEZ et HELME. Les staphylocoques dans l'otorrhée. *Ann. des mal. de l'or. et du lar.*, janvier 1895.

récemment encore de trouver l'origine bactériologique de la chronicité des otites. Ils reprennent la théorie de Zaufal, de Netter, de Moos, et pensent que les otites deviennent chroniques par infection secondaire. Les otites aiguës primitives seraient dues surtout au streptocoque ou au pneumocoque en culture pure. Puis viendraient, pour constituer secondairement l'otite chronique, les staphylocoques aureus, albus et citreus, le tétragène, le proteus, le bacille pyocyanique. Les saprophytes joueraient également un rôle très actif, en particulier pour développer la fétidité du pus, et pourraient même exalter par leur présence la virulence des espèces pathogènes auxquelles ils se trouvent associés. Le staphylocoque, si rare au début de l'otite, serait au contraire extrêmement fréquent dans l'otorrhée; on rencontrerait en effet les staphylocoques 92 fois pour 100 dans le pus des vieilles otorrhées, et presque toujours à l'état pur. L'infection secondaire serait donc le fait du staphylocoque, et en particulier du staphylocoque blanc, dont l'apport incessamment renouvelé entretenirait la chronicité. Ces microorganismes pourraient venir des fosses nasales par l'intermédiaire des trompes d'Eustache; mais il y aurait lieu d'admettre qu'ils viennent généralement par le conduit auditif externe, où ils sont apportés par les objets de pansement non stérilisés (tampons d'ouate), et qu'ils pénètrent dans la caisse à la faveur de la perforation du tympan.

Ici encore, il est à regretter que les auteurs n'aient pas contrôlé leurs cultures par l'examen sur lamelles; ils auraient vu assurément que le staphylocoque n'est

pas généralement contenu à l'état de pureté dans les otorrhées.

Pes et *Gradenigo* (1) combattirent vivement les conclusions de *Lermoyez* et *Helme*; ils citèrent des faits où le staphylocoque existait dès le début de l'otite et ils attribuèrent la chronicité à la rétention du pus par insuffisance de la perforation tympanique ou par manque de propreté, à des complications mastoïdiennes, ou à l'existence de lésions inflammatoires chroniques du rhino-pharynx et du conduit auditif externe.

Un seul auteur, à notre connaissance, a essayé d'aborder l'étude bactériologique comparative des otites aiguës non fétides et des otorrhées chroniques fétides. C'est *Léopold Stern* (2) dont le travail très consciencieux a été fait dans la clinique de *Bezold* et au laboratoire d'*Emmerich*. Cet auteur prit la sécrétion de malades qui ne suivaient pas de traitement au moment de l'examen. Il recueillait le pus au niveau du tympan au moyen d'une aiguille de platine stérile à travers un spéculum stérile, et il le portait dans de l'eau stérile. Puis il introduisait un tampon de coton dans l'oreille, pour faire des lamelles qu'il colorait par le violet de gentiane, par la fuchsine phéniquée et par la méthode de *Gram*. La dilution

(1) *Pes* et *Gradenigo*. Les staphylocoques pyogènes dans les otites moyennes aiguës et chroniques, et en particulier de leur mode de traitement. *Ann. des mal. de l'or. et du lar.*, juillet 1895.

(2) *Léopold Stern*. Contribution to the Bacteriology of otitis media purulenta. *Arch. of Otolaryngology*, 1896, n° 2.

aqueuse était ensuite semée sur agar ou sur gélatine. Jamais il n'a trouvé le pneumocoque.

Il distingue dans l'otite moyenne purulente, trois ordres de faits :

1) Suppurations modérées ou très abondantes, mucopurulentes, non fétides, caractéristiques des attaques aiguës survenant au cours des otites chroniques ;

2) Suppurations plus ou moins abondantes, fétides, caractérisant les cas anciens ;

3) Suppurations épaisses, fétides, caractérisant les cas en voie de guérison.

Il cite trois cas appartenant au premier groupe de faits. Deux fois les lamelles ne portaient que des cocci, et les cultures sur gélatine donnèrent le staphylocoque blanc à l'état de pureté. Il suppose que l'infection avait dû se faire par voie pharyngée. Il attribue au contraire une origine exogène, transtympanique au troisième cas. Ici, on voyait sur lamelles quelques bâtonnets courts, quelques bâtonnets analogues au bacille tuberculeux, mais plus gros, enfin des cocci, en diplocoques ou en amas. Les cultures sur gélatine et sur agar donnèrent exclusivement du coli-bacille.

Voici-quelles conclusions il tire de ces examens ;

« Les organismes pathogènes peuvent pénétrer dans la caisse, seuls ou accompagnés de saprophytes. Si les pathogènes existent seuls, ils déterminent une suppuration analogue aux processus aigus. S'ils sont accompagnés de saprophytes, ceux-ci, soit qu'ils aient pénétré dès le début, soit qu'ils n'apparaissent que plus tard, trouvent des produits favorables à leur dévelop-

pement. Au début, nous ne voyons aucun saprophyte; plus tard, quelques rares formes en bâtonnet apparaissent dans une suppuration non fétide. Mais, même s'ils sont en petit nombre, les bâtonnets développent leurs propriétés putréfactives, et la fétidité apparaît. Quand ce moment est venu, les bâtonnets se voient en grand nombre sur les préparations, mais ils ne se développent pas sur les plaques en même temps que les bactéries pathogènes. Si donc dans notre troisième cas, le coli s'est développé seul, c'est que, renversant les rôles, il était devenu pathogène, alors que les cocci étaient saprophytes. Finalement les saprophytes prennent le dessus et les pathogènes abandonnent la place. Tant que les générateurs primitifs de l'inflammation gardent leur pouvoir de végétation au complet, d'autres bacilles ne peuvent coexister avec eux; ce n'est qu'après l'affaiblissement des pathogènes que les saprophytes font leur apparition ».

Nous discuterons tout à l'heure cette théorie. Mais nous voulons résumer d'abord les résultats obtenus par Stern dans les cas *chroniques fétides* : « *Ce qui nous frappe le plus, dit-il, c'est l'aspect de la préparation microscopique. Nous y voyons côte à côte toutes les formes imaginables de bactéries; presque toujours les bacilles sont en grande majorité sur les cocci. Ce qui est remarquable, c'est que les plaques donnent toujours au contraire un tableau très simple. Il ne s'y développe généralement qu'une seule espèce, ou plus rarement deux ou trois* ».

Et il décrit en effet huit cas typiques, où les préparations microscopiques indiquent toujours une grande

variété de germes ; sur les plaques, il n'y a jamais qu'une ou deux variétés de colonies, parmi lesquelles plusieurs sont constituées par des bacilles liquéfiant qui conservent une odeur fétide. Il décrit sur ses plaques : *a*) de petits bâtonnets liquéfiant, fluorescents ; *b*) des bâtonnets liquéfiant se colorant mal en leur milieu ; *c*) des bâtonnets liquéfiant, analogues au bacille typhique ; *d*) le staphylococcus pyogènes aureus ; *e*) des bâtonnets non liquéfiant ; *f*) de petits bâtonnets courts, non liquéfiant, non pathogènes pour la souris ; *g*) de petits bacilles non liquéfiant, à peine plus gros que le bacille tuberculeux ; *h*) des colonies grises, non liquéfiantes, diffusibles, composées de bacilles très petits et minces, analogues au choléra des poules ; *i*) des colonies non liquéfiantes, analogues au choléra ; *k*) de gros coccus ; *l*) un bacille liquéfiant ; *m*) le staphylococcus pyogène albus.

Sur ses lamelles, il trouve des formes bien plus variées, vibrions, filaments, etc. Mais il n'y a aucun rapport entre les plaques et les lamelles. Il conclut en disant qu'il n'existe pas de microbes spécifiques de l'otite chronique purulente, mais que la présence des saprophytes est caractéristique des formes chroniques.

En somme, Stern a eu le mérite de remarquer cette disproportion considérable entre les préparations microscopiques et les cultures, qui est si frappante dans les suppurations otiques, particulièrement dans les suppurations fétides. Mais, pour expliquer ce fait, il est obligé de recourir à une théorie complètement erronée. Partant de cette opinion, que

tout ce qui n'est pas les microbes pathogènes connus, est saprophyte, c'est-à-dire inoffensif, il attribue, comme la plupart des auteurs qui l'ont précédé, le pouvoir pathogène aux seuls cocci. Et pour faire cadrer cette manière de voir avec les faits, il imagine que les saprophytes ne peuvent pousser en présence des pathogènes; en un mot il confond la virulence avec la vitalité. Cette théorie est si bizarre, qu'il n'est même pas besoin de la réfuter.

Si nous jetons un coup d'œil d'ensemble sur cet historique, nous voyons que la question de la bactériologie des otites a parcouru plusieurs étapes. Les premiers auteurs qui aient exploré ce domaine ont établi l'existence d'otites aiguës à streptocoque et à pneumocoque purs. Ils ont vu que certaines septicémies d'origine otique pouvaient être dues à ces microorganismes. C'est à Netter et à Zaufal que nous sommes surtout redevables de ces notions. Malheureusement leurs conclusions qui ne portaient forcément que sur un petit nombre de cas, ont été trop généralisées par la suite. Il a été dès le début considéré comme acquis que seuls les cocci pyogènes étaient pathogènes. Aussi, dans une seconde période, a-t-on complètement négligé d'attribuer une importance quelconque aux autres formes et spécialement aux formes bacillaires que l'on observait dans les pus otiques. Comme on en avait cultivé quelques-unes qui étaient des saprophytes indiscutables, on s'est habitué à admettre que toutes les formes bacillaires décelées dans ces pus étaient dépourvues d'action pathogène. Plus tard, on les mit en rapport avec la chroni-

cité des écoulements d'oreille et avec leur fétidité, mais on ne songea pas qu'ils pouvaient bien être en partie responsables de l'allure si particulière, parfois si rapidement grave, de certaines septicémies; et lorsque Stern constata que beaucoup de bactéries observées dans le pus ne se développaient pas dans les milieux de culture, aveuglé par les idées courantes, il se crut obligé pour expliquer ce fait paradoxal d'inventer une théorie absolument inadmissible. Ce fait de la discordance entre la richesse microbienne du pus examiné sur lamelles et la pauvreté des cultures sur les milieux habituels avait déjà été noté par *Veillon* (1) dans l'étude de plusieurs cas de suppurations gangréneuses et fétides (abcès gangréneux, angines de Ludwig, bartholinites). Mais il avait démontré que par l'ensemencement en milieu privé d'oxygène, on arrivait à cultiver les formes microbiennes constatées à l'examen des lamelles et ne poussant pas sur les milieux aérés, et que par conséquent il s'agissait dans ces cas de suppurations riches en *microbes anaérobies stricts*, auxquels il attribuait la production de la fétidité.

Plus récemment *Veillon* et *Zuber* (2)-(3) ont étudié d'une manière systématique des processus gangréneux et des suppurations fétides, au point de vue de la

(1) VEILLON. Sur un microcoque strictement anaérobie trouvé dans des suppurations fétides. *Soc. de biol.*, juillet 1893.

(2) VEILLON et ZUBER. Sur quelques microbes strictement anaérobies et leur rôle dans la pathologie humaine. *Soc. de biol.*, mars 1897.

(3) VEILLON et ZUBER. Recherches sur quelques microbes strictement anaérobies, et leur rôle dans la pathologie. *Arch. de méd. expériment. et d'anat. pathol.*, juillet 1898.

recherche des microbes strictement anaérobies, et de leur rôle pathogène. Ils ont démontré la présence constante d'anaérobies stricts existant en grande abondance soit seuls, soit associés aux espèces aérobies vulgaires dans tous les pus gangréneux et putrides étudiés par eux. Ils ont isolé et cultivé à l'état de pureté plusieurs espèces anaérobies strictes, dont ils ont étudié expérimentalement l'action pathogène sur les animaux. La plupart sont doués d'une virulence considérable et provoquent chez l'animal des phlegmons à caractère gangréneux et putride, et des accidents d'intoxication mortels. Ils en concluent que les processus gangréneux et putrides sont sous la dépendance de l'infection produite par ces microorganismes. *J. Hallé* (1) qui a employé les mêmes méthodes pour l'étude des suppurations du canal génital de la femme a obtenu des résultats semblables.

Dans la suite de ce travail, on verra que nos recherches confirment les travaux si importants de ces auteurs, et qu'il faut attribuer aux bactéries strictement anaérobies un rôle considérable dans la genèse des infections fétides d'origine otique.

(1) *J. HALLÉ*. Recherches sur la bactériologie du canal génital de la femme. Paris, Steinheil, 1898.

CHAPITRE II

MÉTHODE ET TECHNIQUES EMPLOYÉES

Nous allons décrire dans ce chapitre, avec autant de précision que possible, les procédés dont nous nous sommes servi pour conduire nos recherches. Les détails, par fois un peu minutieux, où nous serons contraint d'entrer à ce propos, ne nous paraissent pas superflus : l'exactitude des techniques constitue en effet, en bactériologie, un des seuls critères de certitude.

§ 1. — Matériel à examiner.

Nous avons pris le plus souvent le pus des mastoïdites au cours même de l'opération chirurgicale : toutes les fois qu'il nous a été possible, nous avons puisé le pus nous même, au moyen d'une pipette flambée. Pour éviter de casser à la pince notre pipette, nous avons soin de l'effiler à la lampe, à peu de distance de son extrémité close ; en saisissant alors l'extrême pointe, on casse la pipette au niveau de l'effilure qui n'a pu être souillée ni par les doigts ni par la pince.

Ce procédé a en outre l'avantage de donner toujours une cassure nette.

Il n'est pas toujours facile d'aspirer le pus contenu dans les cellules mastoïdiennes : il n'existe souvent qu'en très petite quantité, et la gouttelette qu'il forme peut être voilée par le sang suintant abondamment de la plaie osseuse. C'est ainsi que parfois, dans des pipettes qui nous avaient été remises, nous n'avons trouvé que du sang absolument stérile. D'autre fois la cavité mastoïdienne contient des fongosités et non du pus; les cas de ce genre ont été rejetés.

Il importe que l'opération chirurgicale soit conduite suivant les règles de l'*asepsie* stricte. Des instruments, des tampons trempés dans un liquide antiseptique faussaient les résultats, pour des raisons que l'on comprend aisément.

Au moment de la prise du pus, nous avons toujours noté son odeur ou son absence d'odeur.

Dans un de nos cas, la trépanation de la mastoïde n'ayant pas été pratiquée, nous n'avons pu recueillir le pus qu'à l'autopsie. Le rocher enlevé en totalité, puis scié en deux pour ouvrir l'oreille moyenne, nous avons pu au moyen d'un bistouri rougi stériliser la surface du pus concret qui fermait l'autre mastoïdien, et puiser ensuite à travers cette surface flambée. C'est encore après avoir stérilisé les surfaces libres avec une lame rougie que nous avons recueilli les liquides pathologiques dans les cas d'abcès, de phlegmons, d'arthrites, de noyaux pulmonaires gangréneux consécutifs à des otites.

Le pus des otorrhées chroniques ne peut être puisé

avec autant de garanties de pureté. Voici comment nous nous y sommes pris : après avoir fait une grande injection d'eau stérile par le conduit auditif externe, nous bouchions ce conduit à l'aide d'un bourdonnet d'ouate stérile ; puis au bout de 24 heures, nous aspirions le pus qui s'était accumulé dans la cavité. C'est là évidemment un procédé défectueux, car il ne saurait mettre complètement à l'abri des germes accidentels venus de l'air. Mais nous n'en avons point trouvé de meilleur. Du reste, il faut bien admettre que dans ces écoulements d'oreille chroniques, les germes de l'air, trouvant à se développer, deviennent forcément des hôtes, pour ainsi dire normaux, de la cavité malade ; on ne saurait donc, en bonne logique, séparer leur étude de celle des microorganismes venus du dedans. Et il nous importait précisément d'obtenir une idée de la flore totale de ces écoulements.

Les pipettes fermées à la lampe, étaient portées aussitôt au laboratoire. Chaque fois que cela nous a été possible, nous avons recueilli deux pipettes du pus à examiner : l'une servait aux colorations, l'autre aux ensemencements. La coloration devant toujours précéder l'ensemencement, cette précaution n'est pas sans importance.

§ 2. — Colorations de pus.

Le pus étalé sur lamelles, puis séché, nous l'avons fixé généralement à la flamme. Pourtant, il arrive que son origine osseuse le rende fort riche en graisse, ce qui

gène la fixation par ce moyen. Il est préférable alors de dégraisser et de fixer en même temps avec l'alcool-éther.

Nous nous sommes servi à peu près exclusivement de trois méthodes de coloration.

a) *Coloration simple au violet de gentiane en solution hydro-alcoolique.* C'est là un procédé très rapide et qui donne des résultats excellents. Le violet a l'avantage de teinter les divers éléments d'un pus, cellules, noyaux, bactéries, d'une manière élective : les cellules en lilas pâle, les noyaux en violet foncé, les bactéries en violet presque noir. On obtient ainsi de très bonnes vues d'ensemble.

Dans les pus fétides polymicrobiens, on remarque souvent que les diverses formes bactériennes ne se colorent pas avec une égale intensité ; certaines d'entre elles prennent à peine la couleur, d'autres au contraire s'en pénètrent très complètement.

b) *Coloration par la fuchsine phéniquée de Ziehl à froid.* C'est encore là un procédé pour ainsi dire instantané, le liquide colorant ne devant être employé que durant quelques secondes. On lave ensuite à grande eau. L'acide phénique qui entre dans la constitution de la solution de Ziehl altère les cellules du pus. Mais la fuchsine précise, mieux que le violet de gentiane, les contours des bactéries, et permet de leur reconnaître des granulations, des divisions métamériques, qui sans cela échapperaient à l'observation. On obtient encore par cette méthode de bonnes colorations de capsules, et l'on peut ainsi prévoir la présence du pneumocoque ou d'autres microbes encapsulés.

c) *Coloration par la méthode de Gram.* Il est extrêmement important de faire d'emblée des préparations par cette méthode. Mais il faut bien dire que plusieurs bactéries anaérobies paraissent beaucoup moins sensibles à ce mode de coloration que les microbes aérobies. Souvent l'on n'obtient qu'une décoloration incomplète, et l'on ne peut affirmer la nature positive ou négative de la réaction. C'est là un point sur lequel nous reviendrons plus loin.

Nous nous sommes toujours servi simultanément de ces trois méthodes. On se rend ainsi un compte approximatif du nombre des bactéries contenues dans le pus, et par conséquent du nombre de dilutions qu'il faudra faire en ensemençant pour obtenir des colonies bien séparées. On peut aussi noter les différentes formes microbiennes observées et se rendre compte de leur fréquence relative. La préparation conservée et montée dans le baume servira jusqu'à un certain point de contrôle pour les résultats ultérieurs des cultures. Certains microorganismes, comme les *spirochaetes* par exemple, n'ont pu être cultivés jusqu'ici. La coloration du pus sur lamelles est donc le seul moyen de déceler leur présence. Elle peut aussi faire soupçonner la présence de microorganismes qui exigent des procédés spéciaux de culture, ou au moins certaines précautions. Si l'on remarque par exemple des diplocoques encapsulés et gardant le Gram, on sera amené à faire aussitôt une inoculation du pus à la souris, et l'on sèmera sur agar-ascite, ou sur agar sang-humain, pour ne pas laisser échapper le *pneumocoque*.

Il est bon d'examiner aussi sous le microscope une goutte de pus sans coloration, pour noter l'existence de bactéries mobiles.

Il va sans dire qu'en aucun cas les préparations colorées n'autorisent un diagnostic bactériologique. L'étude des microbes en culture permet seule de les identifier.

§ 3. — Ensemencements aérobies.

Nous avons, pour obtenir les microbes vivant au contact de l'air, semé toujours sur de l'agar préparé selon la technique vulgaire, avec du bouillon salé, peptonisé et possédant une réaction faiblement alcaline. Veillon a indiqué dans sa thèse un procédé permettant de faire facilement des séparations sur trois ou quatre tubes d'agar. On ensemence directement le bouillon exsudé qui se rassemble au fond du tube ; une goutte de ce bouillon est ensuite portée au moyen d'une anse de platine dans le bouillon d'un deuxième tube, une goutte de celui-ci dans un troisième, etc. Puis on couche les tubes de manière à promener le bouillon sur toute la surface de la gélose qui se trouve ainsi ensemencée. Les tubes sont ensuite placés verticalement dans l'étuve. Trois ou quatre tubes suffisent généralement pour obtenir des colonies bien séparées, pourvu qu'ils soient d'un assez grand calibre.

Il est important de semer le plus tôt possible, après avoir recueilli le pus. Car certaines espèces se multiplient à la température ordinaire dans la pipette beau-

coup plus rapidement que les autres. Ainsi le colibacille et le proteus de Hauser peuvent se trouver à l'origine en très petite quantité dans le pus. Au bout de quelques heures, ils se seront développés avec une telle abondance que leurs colonies masqueront dans les tubes de culture les autres colonies et rendront leur isolement fort difficile ou impossible. La présence du proteus est particulièrement gênante à ce point de vue, car il donne des colonies qui diffusent sur toute la surface de la gélose et recouvrent tout le reste.

Il arrive assez souvent que sur les tubes de première génération, on trouve, outre des formes aérobies connues, d'autres formes que l'on ne parvient pas à isoler ni même à retrouver dans les réensemencements ultérieurs, mais que l'on reconnaît dans les cultures anaérobies. Leur présence dans les tubes aérobies peut tenir à deux causes :

Ce sont quelquefois simplement les microorganismes anaérobies du pus que l'on a semés en grande quantité, et que l'on retrouve tels quels. Mais il se peut, d'autre part, que ces anaérobies se soient réellement multipliés : les aérobies auxquels ils se trouvent mêlés s'emparent en effet de l'oxygène du milieu, et leur développement permet aux anaérobies de pousser. Il se produit dans les tubes de culture ce qui se passe dans la nature ; ainsi les anaérobies des otorrhées chroniques poussent en apparence au contact de l'air ; c'est qu'ils sont mêlés à des aérobies qui réalisent pour eux les conditions de l'anaérobiose.

Dans les ensemencements ultérieurs, les colonies de

microbes aérobies étant isolées, les anaérobies cessent de se développer.

Nous avons souvent semé simultanément sur agar-sang humain ou sur agar-ascite. C'est qu'alors nous soupçonnions la présence d'une bactérie fragile, telle que le pneumocoque, auquel il importait de fournir le milieu le plus favorable possible, pour que sa culture ne fût pas entravée par les autres micro-organismes.

Enfin, pour l'étude des microbes aérobies obtenus à l'état de pureté, nous nous sommes servis des milieux ordinairement employés, gélatine, sérum de bœuf solidifié, pomme de terre, bouillon, etc.

§ 4. — Ensemencements anaérobies. — Historique.

Pasteur, en 1861, est le premier qui ait cultivé des organismes anaérobies. Il emplissait de liquide nutritif un ballon de six litres reposant sur un foyer. Une tubulure recourbée plongeait dans une capsule remplie du même liquide et reposant également sur un foyer. Une autre tubulure se dirigeait verticalement en haut ; elle était pourvue à son extrémité d'un petit entonnoir cylindrique ; un robinet permettait d'interrompre la communication entre l'entonnoir et le ballon. Pasteur décrit dans les termes suivants la manière dont il ensemençait ce ballon : « On porte simultanément à l'ébullition, dit-il, le liquide du ballon et celui de la capsule, et l'on maintient l'ébullition pendant plus d'une demi-heure afin de chasser tout l'air dissous. Le liquide sort et rentre à diverses reprises dans le ballon, chassé par

la vapeur ; mais la portion qui rentre est toujours à l'ébullition. Le lendemain, après le refroidissement, on porte l'extrémité du tube abducteur dans un vase plein de mercure, et tout l'appareil est mis à l'étuve à une température de 25 à 30° ; puis, après avoir rempli de gaz acide carbonique ce petit entonnoir cylindrique qui surmonte le robinet, on y fait passer, avec les précautions voulues, dix centimètres cubes d'un liquide composé comme le précédent, mais rempli de vibrions. On tourne alors la clef du robinet placé au bas de l'entonnoir, en ne laissant dans ce dernier qu'une petite quantité de liquide, propre à garantir davantage l'accès de l'air. La mise en levain se trouve ainsi pratiquée sans que le liquide fermentescible ni le levain n'aient été en rapport avec l'air extérieur (1). »

Ce procédé privait presque complètement d'oxygène le milieu nutritif : 3 litres du liquide en contenaient moins d'un milligramme.

Plus tard, en 1878, *Pasteur, Joubert et Chamberland* (2) cultivèrent le vibrion septique dans un tube en U sur la convexité duquel était soudé un tube de verre étranglé en un point et pourvu d'un petit tampon de ouate. Dans une des branches on faisait pénétrer par une tubulure latérale le liquide nutritifensemencé ; dans l'autre branche, pourvue aussi d'une tubulure

(1) Études sur la bière et les fermentations.

(2) PASTEUR, JOUBERT et CHAMBERLAND. La théorie des germes et ses applications à la médecine et à la chirurgie. *Bulletin de l'Académie de médecine*, 2^e série, t. VII, p. 432.

latérale, on introduisait le liquide stérile. Les deux tubulures latérales étaient ensuite scellées à la lampe. Puis on faisait le vide dans l'appareil par le tube étranglé, relié à une machine pneumatique à mercure. L'air était chassé du liquide des deux branches, au moyen d'une petite flamme de gaz promené avec précaution le long des parois du verre, de manière à déterminer l'ébullition à basse température. Une fois le vide obtenu, on scellait le tube abducteur au niveau de son étranglement. A l'étuve, on voyait le liquide se troubler dans la branche ensemencée, tandis qu'il restait limpide dans l'autre branche. En inclinant ensuite le tube de manière à faire passer une goutte de culture dans la branche non ensemencée, on obtenait une deuxième culture. Pour éviter plus complètement encore l'accès de l'air, Pasteur, Joubert et Chamberland firent aussi passer dans l'appareil un gaz inerte, tel que l'hydrogène ou l'acide carbonique.

Nencki en 1880 (1) fit également des cultures anaérobies en milieu liquide ; il obtenait le vide soit par l'ébullition soit par la machine pneumatique ; pour vérifier l'anaérobiose il se servait de la propriété que possède l'acide pyrogallique de brunir au contact de l'oxygène.

Hüfner (2), puis Rosenbach (3) employèrent pour la

(1) NENCKI. Beiträge zur Biologie der Spaltpilze, 1880.

(2) HÜFNER. Ueber die Möglichkeit der Ausscheidung von freiem Stickgas bei der Verwesung stickstoffhaltiger organischer Materie *Journal f. praktische Chemie*, N. S., vol. XIII.

(3) ROSENBACH. Ueber einige fundamentale Fragen in der Lehre von den chirurgischen Wundinfektionskrankheiten. *Deutsche Zeitschrift f. Chirurgie*, vol. XVI, p. 342.

première fois les milieux solides : dans un ballon à fond plat, pourvu d'un long col effilé et d'un tube latéral horizontal renflé en un point, ils versaient une couche de gélatine ou d'agar. Dans le renflement de l'ajutage latéral ils faisaient pénétrer le liquide infecté, et fermaient ensuite à la lampe l'extrémité de l'ajutage. En chauffant le ballon ils obtenaient l'ébullition du milieu et l'expulsion de l'air, puis ils fermaient le col à la flamme. Après refroidissement à 40°, ils chassaient la semence de l'ajutage en la chauffant légèrement et la répandaient dans la substance nutritive; puis ils fermaient le tube latéral au voisinage du ballon et portaient l'appareil à l'étuve.

En 1884, *Lachowicz* et *Nencki* (1) imaginèrent un dispositif fort compliqué et sans utilité pratique, où l'air était chassé du liquide nutritif à la fois par l'ébullition et par le passage prolongé d'un courant d'hydrogène. Ils prétendaient démontrer à l'aide du ferro-cyanure blanc qu'il ne restait dans l'appareil aucune trace d'oxygène.

En somme, les méthodes employées par ces divers auteurs étaient surtout destinées à démontrer la réalité de la vie sans air. Elles ne pouvaient guère servir, à cause de leur excessive complication, à l'étude pratique des microorganismes anaérobies. Le ballon de Pasteur demeurait l'appareil le plus simple et le plus ingé-

(1) LACHOWICZ et NENCKI. Die Anaerobiosenfrage. *Arch. f. die gesamte Physiologie*, 1884, vol. XXXIII, p. 1.

nieux, mais il ne pouvait être utilisé pour la séparation des espèces.

Koch (1), dès 1884, chercha à appliquer à l'isolement des anaérobies la méthode des plaques, qui lui avait donné pour l'étude des aérobies tant et de si féconds résultats. Dans ses plaques, il chercha à empêcher l'accès de l'air en recouvrant la couche de gélatine d'une lamelle de mica. Ce procédé, qui a été repris depuis par San Felice, ne donne malheureusement qu'une anaérobiose très imparfaite.

L'année suivante *Hauser* (2) se servit de tubes à essai ordinaires munis de tubulures latérales qui permettaient de faire passer sur la gélatine ensemencée un courant d'hydrogène; le tube et ses deux tubulures latérales étaient fermés à la lampe avant de passer à l'étuve.

En 1886 enfin parut l'important mémoire de *Liborius* (3), travail remarquable tant au point de vue de la biologie générale que de la technique. L'auteur a cherché à perfectionner l'emploi des milieux solides pour la culture des anaérobies, et s'est proposé de savoir quels sont, parmi les procédés décrits avant lui, les meilleurs et les plus pratiques. Il a inauguré la méthode

(1) R. KOCH. Zur Aetiologie des Milzbrandes. *Mittheilungen aus dem kaiserl. Gesundheitsamte*, vol. I, 1881.

(2) HAUSER. Ueber Fäulniss Bakterien und deren Beziehung zur Septicämie, Leipzig, 1885, p. 50.

(3) LIBORIUS. Beiträge zur Kenntniss des Sauerstoffbedürfniss der Bakterien. *Zeitschrift f. Hygiene*, vol. I, 1886.

des *milieux solides en couche profonde*, et s'est servi de tubes à essai ordinaires remplis jusqu'à une hauteur de 5, 10 ou 20 centimètres de gélatine, d'agar ou de sérum. Rejetant l'ensemencement par piqure qui fait pénétrer de l'air dans le milieu et qui ne permet pas d'obtenir des colonies isolées, il a imaginé de liquéfier le contenu des tubes, d'ensemencer par dilutions successives une série de tubes et de laisser ensuite le milieu faire prise. On obtient ainsi des colonies isolées répandues dans toute la masse nutritive. Mais il importe de prendre quelques précautions; la liquéfaction doit être faite à la plus basse température possible. On ensemence avec un long fil de platine ou une pipette, qu'il faut agiter de manière à répartir très également la semence dans le milieu; on doit éviter les bulles d'air. Enfin il faut faire des dilutions assez grandes pour que les colonies soient espacées, peu nombreuses et également réparties; la zone occupée par les colonies permet alors de juger de l'influence de l'oxygène sur leur développement. Pour examiner les colonies, on expulse la colonne de gélatine ou d'agar dans une boîte de Petri stérilisée et on la coupe en tranches avec un instrument stérile. Si l'on opère purement et que l'air ne soit pas agité on peut faire ainsi des réensemencements.

Ce procédé rend plus difficile que les plaques l'examen microscopique à faible grossissement, et la prise des colonies pour faire des lamelles. Mais il est cependant fort pratique; il procure facilement une privation d'oxygène presque absolue et il donne pour l'étude des anaérobies stricts d'excellents résultats.

Dans les tubes de Liborius la culture des microbes anaérobies commence à se faire à 3 ou 4 centimètres au dessous de la surface ; la zone supérieure représente la zone de pénétration de l'oxygène. En ajoutant une couche d'huile au-dessus du milieu nutritif, ainsi que Pasteur l'avait déjà indiqué, on rend l'accès de l'air plus difficile encore, et les cultures se font plus près de la surface, mais cette complication technique n'est pas justifiée par de réels avantages.

Liborius a préconisé encore un deuxième procédé qui est une modification de celui de Hauser. Dans un tube à essai pourvu d'un étranglement et contenant de la gélatine ou de l'agar liquéfié à 30 ou 40°, il fait passer à l'aide d'une tubulure latérale un courant d'hydrogène que l'on peut même faire barbotter dans le liquide. On scelle ensuite la tubulure latérale et le tube lui-même au niveau de l'étranglement. Liborius préfère l'hydrogène à l'acide carbonique qui gêne la culture de certaines espèces. Ce procédé, beaucoup plus compliqué que le précédent, permet d'obtenir l'anaérobiose parfaite.

Enfin pour avoir des cultures en surface, Liborius a construit un appareil composé d'une cloche lourde reposant sur une plaque de caoutchouc, et munie de deux tubulures permettant le passage d'un courant d'hydrogène. On dispose les plaques sur un chevalet, sous la cloche. Cet appareil, peu maniable, est médiocre. Il n'a donné de bons résultats qu'avec des plaques d'au moins un centimètre d'épaisseur. Par surcroît de précautions, l'auteur mettait sous la cloche une boîte de Petri ense-

mencée avec un microbe avide d'oxygène, tel que le proteus de Hauser.

Quelle que soit la méthode employée, Liborius additionne ses milieux de culture de 2 pour 100 de glycose, substance réductrice qui favorise le développement de tous les microorganismes anaérobies.

Esmarch (1), en 1886, appliqua à la culture des anaérobies sa méthode des tubes roulés. Dans un tube à essai ordinaire, renfermant de la gélatine stérilisée, et bouché par un tampon de ouate, il liquéfiait la gélatine à une douce chaleur, ensemençait, agitait le liquide pour bien répartir les germes, puis enroulait la gélatine sur les parois du tube tenu horizontalement sous un filet d'eau froide, en lui imprimant un mouvement rapide de rotation. Quand la gélatine avait fait prise, il achevait de remplir le tube en y versant le contenu liquéfié d'un autre tube de gélatine. On peut faire de la même manière des tubes avec de la gélose, qu'il faut avoir soin d'additionner de quelques gouttes d'une solution de gomme neutralisée et stérilisée, pour lui permettre d'adhérer aux parois du verre.

Max Gruber (2), en 1887, préconisa un procédé de culture sur gélatine qui n'était en somme qu'une modification de l'appareil de Pasteur, Joubert et Chamber-

(1) ESMARCH. Ueber eine Modifikation des Koch'schen Plattenverfahrens zur Isolirung und zum quantitativen Nachweis von Mikroorganismen. *Zeitschrift für Hygiene*, 1886, vol. I, p. 115.

(2) MAX GRUBER. Eine Methode der Kultur anaerobischer Bakterien. *Centralbl. f. Bakteriologie u. Parasitenkunde*, 1887, n° 2.

land: il se servait d'un gros tube à essai étranglé, fermé par un bouchon de caoutchouc traversé par un tube; après avoirensemencé dans le milieu liquéfié, il faisait le vide et scellait au niveau de l'étranglement.

Roux (1), la même année, décrivit différents procédés. Il emploie soit une pipette à renflement qu'il remplit complètement par aspiration avec de la gélatine liquéfiée, et scelle aux deux bouts après ensemencement, soit un tube analogue à celui de Liborius, permettant de faire barbotter de l'hydrogène dans le milieu liquéfié, et de faire ensuite le vide. Pour obtenir des cultures en surface, on remplit incomplètement le tube avec le milieu liquéfié; on le prive d'air au moyen de la trompe ou de la machine pneumatique, et l'on fait arriver ensuite un courant d'hydrogène, au moyen d'une tubulure latérale branchée sur le tube d'aspiration. Puis on laisse refroidir, de manière à ce que le milieu fasse prise dans une atmosphère d'hydrogène. Quand la solidification est complète, on sème sur la surface du milieu, au moyen d'une longue pipette, et l'on scelle enfin le tube, soit sur le vide, soit sur une atmosphère d'hydrogène.

M. Roux a aussi utilisé d'une manière fort élégante la propriété qu'a le bacillus subtilis d'absorber l'oxygène. Il sème au-dessus d'un tube à essai ordinaire de Liborius une culture de subtilis, après avoir préalablement solidifié la gélose ensemencée avec [le microor-

(1) Roux. Sur la culture des microbes anaérobies. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1887, n° 2, p. 49.

ganisme anaérobie. Si l'on veut obtenir des cultures sur gélatine, on verse par dessus la colonne de gélatine ensemencée et solidifiée, une petite colonne de gélose qui fait prise, et sur la surface de laquelle on sème ensuite le subtilis. La bactérie anaérobie pousse parfaitement à l'abri dans la gélatine, séparée du subtilis par le bouchon de gélose qui ne se liquéfie pas. Pour puiser ultérieurement des colonies anaérobies, on casse le tube préalablement lavé, après y avoir fait un trait de lime.

Enfin M. Roux a imaginé un dispositif ingénieux pour obtenir à l'abri de l'air, des cultures sur pomme de terre (1).

Le procédé du tube de Liborius et de Roux se retrouve aussi dans son principe essentiel dans les appareils de Hesse (2) et d'Ogata (3).

Vignal (4) en 1887, se sert de tubes de verre d'un diamètre intérieur de 3 à 4 millimètres et longues d'un mètre. Après les avoir stérilisés, il les remplit par aspiration de gélatine liquéfiée, refroidie dans un courant d'hydrogène et ensemencée au voisinage de 25°. Puis il ferme à la lampe les deux extrémités du tube. En faisant des dilutions suffisantes on peut obtenir ainsi des

(1) ROUX. De la culture sur pomme de terre. *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1888, n° 1, p. 28.

(2) HESSE. *Zeitschr. f. Hyg.*, vol. XI, 1892, p. 237.

(3) OGATA. *Centralbl. f. Bakteriologie u. Parasitenk.*, vol. XI, p. 621.

(4) W. VIGNAL. Sur un moyen d'isolation et de culture des microbes anaérobies. *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1887, n° 6, p. 257.

colonies isolées, que l'on va cueillir ensuite, après avoir cassé le tube par un trait de lime. L'inconvénient des tubes de Liborius, de Roux, de Vignal, etc., est de ne pouvoir servir qu'une fois. Aussi *Fraenkel*(1), en 1888, chercha-t-il à combiner les méthodes de Liborius et celle de Gruber, en employant des tubes ordinaires d'un fort calibre, fermés par un bouchon de caoutchouc, que traversent deux tubes coudés permettant de faire barboter de l'hydrogène dans le milieu ; quand l'air est chassé on ferme leurs extrémités à la lampe.

Fuchs(2) a obtenu des cultures en surface sur des tubes d'agar incliné, en les renversant simplement une fois ensemencés sur un tube dégageant un courant d'hydrogène. Il fermait à la lampe au bout de quelques minutes.

Würtz et *Foureur*(3-4), en 1889, substituent à l'hydrogène le gaz d'éclairage qu'ils font barboter dans le milieu, distribué dans des tubes à essai ordinaires. L'ensemencement se fait au moyen d'une aiguille de platine soudée à l'extrémité du tube de dégagement de gaz, et l'on verse ensuite du pétrole à la surface du milieu pour empêcher l'accès de l'air.

(1) C. FRAENKEL. Ueber die Kultur anaerober Mikroorganismen. *Centralbl. f. Bakteriologie u. Parasitenk.*, 1888, vol. III, p. 763.

(2) FUCHS. Ein anaerober Eiterungserreger. *Inaugural Dissertation*, Greifswald, 1890.

(3) WURTZ et FOUREUR. Note sur un procédé facile des cultures de microorganismes anaérobies. *Arch. de méd. expériment.*, 1889, n° 4, p. 523.

(4) A. FOUREUR. Étude sur la culture des microorganismes anaérobies. *Thèse*, Paris, 1889.

Hans Büchner(1), en 1888, avait déjà imaginé un procédé pratique de culture des anaérobies, fondé sur la propriété que possède l'acide pyrogallique d'absorber l'oxygène. Le tube de culture était placé dans un tube plus grand, au fond duquel on versait une solution d'acide pyrogallique, et que l'on fermait ensuite au moyen d'un bouchon de caoutchouc.

Trambusti(2), en 1889, construisit un appareil spécial permettant d'appliquer cette méthode à la culture sur plaques; et *Nikiforoff*(3), en 1890, se servit aussi des propriétés de l'acide pyrogallique pour cultiver les anaérobies en gouttes suspendues. Pour obtenir facilement des cultures sur plaques, pouvant être examinées sous le microscope, *Kitasato*(4) fit construire la même année ses boîtes plates bien connues, à travers lesquelles on peut faire passer un courant d'hydrogène pendant la solidification du milieu nutritif. *Kamen*(5), *Roth*(6), et tout récemment *Beck*(7) ont imaginé des boîtes analo-

(1) HANS BÜCHNER. Eine neue Methode zur Kultur anaerober Mikroorganismen. *Centralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenk.*, vol. IV, 1888.

(2) TRAMBUSTI. Ueber einen Apparat zur Kultur der anaeroben Bakterien in durchsichtigen Nährboden. *Centralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenk.*, vol. XI, 1892.

(3) NIKIFOROFF. Ein Beitrag zu den Kulturmethoden der Anaeroben. *Zeitschr. f. Hygiene*, vol. VIII, 1890.

(4) KITASATO. Ueber das Wachstum des Rauschbrandbacillus in festen Nährboden. *Zeitschr. f. Hygiene*, vol. VIII, 1890.

(5) KAMEN. Eine einfache Kulturschale für Anaeroben. *Centralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenk.*, vol. XII, 1892.

(6) ROTH. Ueber ein einfaches Verfahren der Anaeroben Züchtung. *Centralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenk.*, vol. XIII, 1893.

(7) BECK. Zur Züchtung anaerober Kulturen. *Centralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenk.*, vol. XXII, 1897.

gues. *Gerstner* (1) s'est servi dans le même but d'un tube analogue à celui de *Fraenkel*, auquel il avait donné une forme plate pour permettre de mieux voir les colonies.

Blücher (2), en 1890, modifia l'appareil à cloche de *Liborius* pour la culture sur plaques ou en boîtes de *Petri*: il se servit d'une cloche renversée sur un mélange de glycérine et d'eau, pour assurer la fermeture hermétique, et dans laquelle on faisait passer un courant d'hydrogène. *Botkin* (3) perfectionna heureusement cet appareil, et employa la paraffine liquide comme substance obturatrice. *Hesse* (4), en 1890, se servit de la cuve à mercure. *Migula* (5), en 1895, décrivit un appareil analogue à celui de *Botkin*. Ces divers appareils à cloche peuvent contenir plusieurs boîtes placées sur un support.

Novy (6), en 1893, pour obtenir dans les mêmes conditions des cultures dans plusieurs tubes ordinaires ou dans plusieurs boîtes de *Petri*, fit construire un flacon

(1) GERSTNER. Beiträge zur Kenntniss obligat anaerober Bakterienarten. *Arbeiten aus dem bakteriolog. Institut. d. technischen Hochschule zu Karlsruhe*, vol. I, 1894.

(2) BLÜCHER. Methode zur Plattenkultur anaerober Bakterien. *Deutsche Zeitschr. f. Hyg.*, vol. VIII, 1890.

(3) BOTKIN. Eine einfache Methode zur Isolierung anaerober Bakterien. *Zeitschr. f. Hyg.*, vol. IX, 1891.

(4) HESSE. Ein neues Verfahren zur Züchtung anaerober Mikroorganismen. *Zeitschr. f. Hyg.*, vol. XI, 1892.

(5) MIGULA. Ueber einen neuen Apparat zur Plattenkultur von Anaeroben. *Deutsche thierärztliche Wochenschr.*, 1895.

(6) NOVY. Die Kultur anaerober Bakterien. *Centralbl. f. Bakteriolog. u. Parasitenk.*, vol. XIV, 1893.

de grandes dimensions fermé par un bouchon traversé de tubes munis de robinets à l'émeri, pour le passage du courant d'hydrogène. *Lubinski* (1), en 1894, se servit d'un appareil analogue où la fermeture hermétique était obtenue par une couche d'eau.

Enfin, plus récemment, *Schmidt* (3) (1895), et *Kaspareck* (2) (1896), décrivirent chacun un dispositif pour cultiver les anaérobies en bouillon.

§ 5. — Ensemencements anaérobies. — Procédé employé dans nos recherches.

La plupart des méthodes que nous venons de décrire ne pouvaient convenir au but que nous nous proposons. Elles supposent en effet que l'on a affaire à des espèces définies, isolées, obtenues en culture pure, et dont on veut faire l'étude biologique. Presque tous les pus que nous avons examinés étaient polymicrobiens, et il fallait avant tout faire la séparation des diverses espèces qui s'y trouvaient contenues. Nous étions obligé, par conséquent, d'ensemencer sur milieux solides, et comme un grand nombre d'anaérobies ne poussent qu'à la température de l'étuve, nous ne pouvions guère songer à nous servir que de l'agar. Mal-

(1) LUBINSKI. Zur Methodik der Kultur anaerober Bakterien. *Centralbl. f. Bakteriologie u. Parasitenk.*, vol. XVI, 1894.

(2) SCHMIDT. Eine einfache Methode zur Züchtung anaerober Kulturen in flüssigen Nährboden. *Centralbl.*, vol. XVII.

(3) KASPARACK. *Centralbl. f. Bakteriologie u. Parasitenk.*, vol. XX, 1896.

heureusement les différentes techniques qu'ont imaginées les auteurs pour la culture des anaérobies sur plaques sont fort compliquées, et leur application exige une série de manipulations qui prennent beaucoup de temps. La richesse de nos pus en bactéries et l'extrême variété des espèces nous obligeait à faire des dilutions très nombreuses, incompatibles avec l'emploi des courants d'hydrogène ou de la machine pneumatique. Suivant les espèces, les colonies demandent un temps plus ou moins long pour se développer et devenir visibles. Il en est qui poussent en moins de 24 heures, tandis que d'autres mettent plusieurs jours à se manifester. La durée de la vitalité des différentes espèces est aussi fort variable, et il est des anaérobies fragiles qu'il faut réensemencer tous les trois ou quatre jours. Il fallait donc que l'on pût cueillir une colonie dans un vase de culture donné, sans que pour cela le milieu cessât de fournir aux autres espèces qui y étaient semées la possibilité de cultiver dans les conditions de l'anaérobiose.

Enfin, il était indispensable de pouvoir regarder facilement au microscope les milieux de culture à un faible grossissement, car certaines espèces donnent des colonies si petites que l'usage du microscope est nécessaire pour déceler leur existence.

En un mot, il fallait réaliser pour les bactéries anaérobies les conditions que l'on obtient, pour les bactéries aérobies, par la méthode des plaques et ses dérivées. La méthode employée par Liborius pour la culture des anaérobies en tube de gélose sucrée en profondeur, est

celle qui nous a paru le mieux appropriée à notre objet; mais il y fallait certaines modifications imaginées par notre ami Veillon (1).

Voici comment nous avons procédé :

Nous nous sommes servi d'agar sucré distribué dans des tubes à essai grand modèle, de manière que l'agar forme une colonne de 12 à 15 centimètres d'épaisseur. Il ne faut pas que le milieu soit trop compact, et il importe qu'il soit très transparent. On le prépare donc de la manière suivante :

A 500 grammes de viande de bœuf ou de cheval, finement hachée, on ajoute un litre d'eau, et l'on fait macérer pendant 24 heures dans un endroit frais. On filtre alors sur tarlatane. On ajoute, s'il y a lieu, la quantité d'eau nécessaire pour faire un litre, et l'on met dans la liquide :

Sel marin.	5 grammes.
Peptone.	10 —
Agar.	12 —

Puis l'on porte à l'autoclave à 100°, jusqu'à liquéfaction de l'agar. On peut aussi faire cette première cuisson à 115°, ce qui permet d'aller plus vite, et n'a pas d'inconvénient. On alcalinise légèrement avec une solution de carbonate de soude, et l'on porte à 115° pendant un quart d'heure ou vingt minutes. Puis on refroidit rapidement, en plongeant la marmite dans de l'eau courante, tout en agitant le liquide avec une baguette de

(1) VEILLON et ZUBER. *Loc. cit.*

verre, pour éviter que le milieu ne fasse prise sur les parois. Quand le mélange a atteint la température de 60°, vérifiée au thermomètre, on s'assure que la réaction est demeurée alcaline, et l'on colle avec un blanc d'œuf, en battant énergiquement pendant cinq minutes au moins. Cette opération du collage est fort importante, car c'est d'elle en grande partie que dépend la rapidité de la filtration et la limpidité du milieu. Si l'on fait à la fois deux litres de gélose, il est préférable d'employer deux œufs. Pendant le collage, on a mis à dissoudre à feu doux 15 à 20 grammes de glucose dans un peu d'eau, On ajoute cette solution au mélange; on reporte à 115° pendant un quart d'heure, et l'on filtre sur papier Charadin. Si le collage a été bien fait, la filtration s'opère en quelques minutes, sans qu'il soit nécessaire de la faire à 100° à l'autoclave, comme il est indiqué dans les livres. Il faut toujours vérifier la limpidité des premières portions qui filtrent, et, par mesure de précaution, il est bon de refiltrer ces premières portions. On distribue ensuite dans des tubes préalablement stérilisés au four Pasteur à 180°, et l'on remplit chaque tube sur une hauteur de 12 centimètres environ. Puis on stérilise les tubes à 115° pendant un quart d'heure. A cause de la grande quantité de gélose que contient chaque tube, il faut absolument éviter les à-coups pendant cette dernière opération. On chauffera donc doucement et l'on laissera refroidir ensuite lentement. On entr'ouvrira légèrement le robinet d'échappement, un peu avant que l'aiguille du manomètre ne soit descendue à 0, pour éviter la sous-pression. Si l'on négligeait ces précautions, il se

produirait une ébullition tumultueuse dans les tubes, et les bouchons d'ouate sauteraient ou seraient mouillés. Il est très important de faire toutes ces opérations à une même température, sans quoi le milieu serait trouble. La limite de 115° que nous avons généralement observée permet d'éviter presque à coup sûr la caramélisation de la glucose, et la teinte brune que communiquent au milieu ses produits d'oxydation. Avec un peu d'habitude, on obtient ainsi des tubes très transparents, où la gélose a une teinte claire, qui facilite beaucoup l'étude des colonies.

A cause de la grande consommation de milieux que nécessite la séparation des microbes anaérobies, il est bon d'en préparer d'un seul coup une grande quantité. Nous avons opéré généralement sur deux litres.

Pour ensemençer les tubes ainsi préparés, on commence par liquéfier la gélose au bain-marie à 100°. Puis on laisse refroidir à 40° environ, température qu'on apprécie fort bien avec la main, et à laquelle la gélose n'est pas encore solidifiée. Dans une pipette stérile on recueille une goutte du pus à examiner, et on la mélange à l'agar liquide d'un premier tube, en agitant bien le milieu pour obtenir une répartition uniforme des germes; quelques gouttes de cette dilution sont ensuite portées dans un deuxième tube, et l'on continue à diluer ainsi de tube en tube, jusqu'à ce que la dilution paraisse suffisante. Pour apprécier le nombre de tubes à employer, on se guide sur la richesse du pus en microorganismes, richesse constatée par la coloration sur lamelles. Quand les microbes sont très peu

abondants, 4 à 5 tubes suffisent. Mais les pus d'origine otitique fourmillent ordinairement de bactéries, à ce point qu'il faut faire 10 à 12 dilutions successives. Encore, avec ce chiffre, est-on parfois exposé à des mécomptes. En règle générale, on ne fait jamais trop de dilutions.

Chaque tube, sitôt ensemencé, est plongé dans l'eau froide, pour que la gélose en se solidifiant rapidement absorbe le moins d'oxygène possible. Il est utile de numéroter les tubes au moment de l'ensemencement. Plus tard en effet, on est souvent embarrassé pour reconnaître les premiers tubes d'avec les derniers, à cause de la rapide diffusion des colonies de certaines espèces.

On porte ensuite les tubes à l'étuve à 37°, et l'on attend le développement des colonies.

Dans les tubes ainsi préparés, les couches profondes de la gélose sont absolument privées d'oxygène; l'air, en effet, a été chassé par l'ébullition, et, grâce à la rapidité de la solidification, les deux centimètres supérieurs de la gélose ont seuls le temps d'absorber de l'oxygène pendant le refroidissement. Dans les tubes non ensemencés on reconnaît facilement les limites de cette zone supérieure, grâce à la teinte brune qu'elle prend au bout de peu de temps et qui traduit l'oxydation de cette région où l'absorption des gaz de l'air se fait encore. On peut encore, par un procédé très simple, s'assurer de la réalité de cette absence d'oxygène dans les couches profondes. Dans un tube dont la gélose a été liquéfiée, on ajoute quelques gouttes

d'une solution de sulfo-indigotate de soude. On refroidit ensuite rapidement, et quelque temps après, on constate que les deux centimètres supérieurs de la gélose solidifiée ont seuls conservé la coloration bleue de l'indigo. Toute la région inférieure est décolorée.

§ 6. — Séparation des espèces anaérobies.

Les colonies que l'on verra se développer dans ces tubes pourront se diviser en trois catégories :

1° Les unes se cantonneront exclusivement dans la zone supérieure de 2 centimètres, ou *zone de l'aérobiose* ; elles seront formées par des aérobies obligés, qui ne peuvent vivre à l'abri de l'oxygène. Les microbes de ce genre sont relativement rares ; pour notre part, nous n'en avons rencontré au cours de nos recherches, qu'une seule espèce : c'est un streptocoque non virulent, hôte habituel de la bouche, et que Veillon (1) a décrit sous le nom de *streptococcus tenuis* ;

2° A la deuxième catégorie appartiennent les organismes mixtes, aérobies ou anaérobies facultatifs, qui se multiplient indifféremment à l'abri ou au contact de l'air. La plupart des aérobies pathogènes sont dans ce cas. Citons en particulier le streptocoque pyogène, les diverses variétés de staphylocoque, le pneumocoque, le *bacterium coli* commune, les différentes espèces de pro

(1) VEILLON. Recherches sur l'étiologie et la pathogénie des angines aiguës. Paris, Steinheil, 1894.

teus, etc. Il en est parmi eux qui paraissent même se développer avec plus de vigueur à l'abri de l'air: le pneumocoque en est un exemple;

3° Enfin à la troisième catégorie appartiennent les espèces très nombreuses qui, strictement anaérobies, se développent exclusivement au-dessous des 2 centimètres supérieurs, dans la zone inférieure, *zone de l'anaérobiose*. Ces espèces transportées sur des milieux ordinaires, destinés à la culture au contact de l'air, ne donnent lieu à aucun développement.

Quand le pus à examiner ne contient que des anaérobies stricts, on s'en rend compte facilement, parce que toutes les colonies poussent au-dessous de la limite des deux zones. Mais quand il s'y trouve à la fois des anaérobies stricts et des micro-organismes mixtes, il faut se livrer à une étude plus attentive des colonies pour parvenir à les distinguer les unes des autres.

Généralement, les microbes mixtes sont beaucoup moins nombreux que les anaérobies, et l'on voit alors un développement beaucoup plus abondant de colonies dans la zone inférieure que dans la zone supérieure, ce qui permet d'affirmer l'existence de microbes anaérobies. Souvent même les derniers tubes d'un ensemencement contiennent exclusivement des anaérobies. Encore, lorsqu'il n'y a que 3 ou 4 colonies dans un tube, ne peut-on rien présumer de leur sensibilité vis-à-vis de l'oxygène, car le hasard seul a pu les distribuer dans la partie inférieure du tube.

Pourtant il est facile d'ordinaire de reconnaître à leur aspect extérieur, au milieu des colonies stricte-

ment anaérobies, des colonies analogues à celles qui se sont développées dans la zone supérieure. Et l'on peut de même se rendre compte que certains types morphologiques de colonies se rencontrent exclusivement dans la zone inférieure. Mais, en somme, on est toujours amené à employer le seul moyen certain de contrôle, à savoir le réensemencement à la fois sur tubes d'agar incliné ordinaire, et en tubes d'agar profond sucré.

Le repiquage des colonies exige certaines précautions: nous nous sommes servis de pipettes stérilisées, effilées, cassées à l'effilure, que nous introduisons dans le tube tenu horizontalement. La difficulté consiste à faire pénétrer la colonie dans l'effilure de la pipette; cette pénétration se fait sans peine lorsque la colonie visée est très grosse; il suffit alors de la traverser une ou deux fois avec l'extrémité de la pipette pour l'y faire pénétrer en partie. Mais pour les colonies très fines, il est souvent fort difficile de mener à bien cette pêche. La difficulté augmente encore lorsque les colonies sont si petites qu'on ne peut les distinguer bien que sous le microscope à un grossissement 0 ou 1. On est obligé alors de pêcher la colonie dans le tube tenu horizontalement sur la platine du microscope.

Il est aisé de cueillir ainsi purement des colonies bien isolées; mais, quand les colonies sont très rapprochées, la séparation devient souvent extrêmement pénible, et l'on ne parvient qu'à grand peine à prendre une colonie sans toucher aux voisines. Mais cette manière de procéder a le grand avantage de laisser le

tube intact. Les autres colonies peuvent continuer à se développer les jours suivants, tandis que la technique de Liborius qui chassait toute sa colonne d'agar dans une boîte de Petri pour la découper en tranches, sacrifie le tube dès le début.

Une fois la colonie cueillie, on la chasse dans un tube d'agar sucré liquéfié à 40°, et l'on solidifie rapidement, — de la manière indiquée plus haut.

L'existence dans les pus polymicrobiens de certains microbes à développement abondant et rapide peut causer des obstacles considérables à l'étude d'un cas donné. Il en est en effet, bactéries strictement anaérobies ou mixtes, qui, en moins de 24 heures, produisent à la température de l'étuve des colonies déjà volumineuses et dont la croissance s'accompagne d'un abondant dégagement de gaz. Ces gaz fragmentent la gélose, en font transsuder le liquide par la pression qu'ils déterminent ; le liquide chargé de microbes s'insinue dans tous les interstices et empêche absolument de recueillir purement les colonies formées par d'autres microbes. Le *bacterium coli* et le *proteus vulgaris* sont particulièrement dangereux à cet égard. La présence du *bacterium coli*, même en petite quantité, dans un pus, peut rendre son étude impossible. C'est une raison de plus pour ensemercer le plus tôt qu'on pourra après la prise du pus, et pour faire des dilutions très nombreuses.

Il arrive parfois qu'une colonie différente des autres soit située à une assez grande profondeur dans le tube, et qu'il soit impossible de la cueillir purement, c'est-à-

dire sans toucher avec la pipette les autres colonies contenues dans le tube. Il faut alors se résigner à casser le tube au niveau d'un trait de scie pratiqué au voisinage de la colonie visée.

Il est bien rare que l'on puisse du premier coup faire des réensemencements purs, et ce n'est souvent qu'après bien des repiquages successifs que l'on arrive à séparer certaines espèces. Il arrive fréquemment que dans une colonie paraissant bien isolée on trouve deux, quelquefois trois microbes différents. Quelquefois même on ne parvient pas à séparer deux espèces, et il semble — bien que le fait soit certainement rare — qu'il existe pour certains microbes anaérobies des phénomènes de symbiose.

Pour mener à bien la séparation des espèces dans un cas donné, il est indispensable, avant chaque réensemencement, de faire d'abord l'examen microscopique d'une parcelle de la colonie visée. Cette parcelle sera étalée sur une lamelle et colorée d'après la méthode de Gram. Cette précaution est nécessaire, parce que l'aspect morphologique des colonies anaérobies est beaucoup plus inconstant que celui des colonies aérobies. On peut rencontrer dans un même tube deux colonies absolument différentes au point de vue morphologique, et qui, examinées au microscope, sont constituées par une seule et même espèce. Inversement deux colonies d'aspect identique peuvent être formées de deux espèces différentes. On conçoit combien cette variabilité morphologique complique la séparation des microbes.

Quand on a réussi à isoler une espèce, il faut l'ense-

mencer sur divers milieux pour étudier tous ses caractères. Nous avons fait des cultures en gélatine, des cultures en milieu liquide, et des cultures en surface sur agar.

La gélatine, sucrée dans les proportions indiquées pour la préparation de l'agar, est distribuée de même dans des tubes à essai, sur une hauteur de 12 à 15 centimètres. L'ensemencement se fait comme pour la gélose. Nous avons généralement versé sur la gélatine solidifiée une couche de 2 centimètres d'agar. Ces tubes sont mis à l'étuve à 22°.

Ces mêmes tubes de gélatine, transportés dans l'étuve à 37°, où la gélatine se fond, peuvent servir à la culture en milieu liquide. C'est même là un procédé très pratique, mais d'un usage assez restreint. Il ne peut servir que pour l'étude morphologique des cultures en milieu liquide, car les propriétés coagulantes de la gélatine empêchent qu'on ne l'emploie aux inoculations intravasculaires.

Pour cultiver en bouillon nous nous sommes servi du tube de Roux, où l'on fait le vide à la machine pneumatique, et que l'on scelle après l'avoir rempli d'hydrogène ou simplement de gaz d'éclairage.

Le tube de Roux nous a encore servi pour les cultures sur agar en surface.

§ 7. — Caractères de culture et de coloration des micro-organismes anaérobies.

L'aspect des cultures pures anaérobies dans les tubes

de Liborius offre certains caractères intéressants, dont nous voudrions ici donner un aperçu.

Il importe de distinguer les cultures à colonies serrées de celles à colonies bien isolées. Nous nous occuperons d'abord des premières.

Nous avons indiqué déjà l'existence dans nos tubes, de deux zones superposées, zone de l'anaérobiose, zone de l'aérobiose. La limite de ces deux zones est souvent le siège de phénomènes très intéressants. Pour certaines espèces, le développement s'arrête net au niveau de cette limite, suivant un plan perpendiculaire à l'axe du tube, et dans toute la région anaérobie, le développement est uniforme. Mais d'autres espèces — et non des moins fréquentes — présentent au niveau de cette limite leur maximum de développement. Sur une hauteur de 2 millimètres environ, immédiatement au-dessous de la région où aucune colonie ne pousse, on voit des colonies plus abondantes, plus serrées, plus grosses que dans le reste de la zone anaérobie. Souvent elles ont, à la limite, une coloration plus foncée, parfois nettement brune, alors que les colonies inférieures sont blanchâtres. Parfois, dans ce cas, la surface-limite au lieu d'être plane est légèrement convexe en haut et forme une sorte de dôme qui surmonte la zone anaérobie. C'est là, nous a-t-il semblé, un phénomène à peu près constant pour une même espèce.

Mais il peut se produire autre chose encore. Il semble quelquefois qu'il y ait deux limites superposées. On voit par exemple dans un tube contenant un anaérobie en culture pure, un nuage de fines colonies uniformément

distribuées, occupant toute la partie inférieure du tube, jusqu'à 5 centimètres de la surface. Au-dessus de ce nuage, se trouve une zone d'un demi-centimètre environ où aucune colonie n'est visible, puis au-dessus de cette région vide, on aperçoit un petit disque épais de 2 à 3 millimètres composé de colonies généralement un peu plus grosses et plus colorées; enfin, au-dessus de ce disque, se voit la zone vide de l'anaérobiose. La zone intermédiaire entre le disque et le nuage inférieur est souvent complètement vide; d'autre fois elle contient quelques colonies beaucoup plus fines, beaucoup plus espacées que dans le reste du tube. Au début on croit avoir à faire à un tube où les germes ont été inégalement répartis au moment de l'ensemencement. Mais, si l'on fait des réensemencements, on s'aperçoit que toutes les générations successives présentent le même caractère de culture.

Enfin, il existe des microorganismes qui se développent exclusivement dans la zone-limite, aux confins de l'aérobiose et de l'anaérobiose. Leur colonies forment à deux centimètres de la surface de la gélose, un petit disque pareil à celui que nous venons de décrire, épais de 3 à 4 millimètres; et dans tous les réensemencements successifs, elles conservent cette situation, ne gagnant ni vers la profondeur ni vers la surface. Ces espèces sont, croyons-nous, extrêmement rares. Dans les deux cas où nous avons pu suivre un microbe de ce genre pendant plusieurs générations successives, il s'agissait d'un petit bacille, qui présentait des formes ramifiées, en γ , pareilles à celles que l'on observe chez les streptothrix.

Nous n'avons pu trouver à ce phénomène d'explication satisfaisante, et nous nous bornons à le noter ici, remettant à plus tard des recherches destinées à l'élucider. Cependant, il nous sera permis de le rapprocher de ce fait que les différentes espèces strictement anaérobies présentent des différences individuelles très marquées, au point de vue de leur sensibilité à l'oxygène. Il en est — et c'est l'exception — qui respectent même les couches supérieures de la zone privée d'air, et qui occupent seulement la moitié inférieure du tube. D'autres se développent abondamment dans la moitié inférieure, tandis que les 2 ou 3 centimètres situés au-dessous de la zone-limite contiennent des colonies extrêmement fines et beaucoup plus espacées. Ces caractères sont assez constants pour une même espèce, pour qu'il soit impossible d'attribuer ces différences à des causes purement contingentes.

On voit donc qu'entre l'aéro-anaérobiose qui est l'apanage des espèces mixtes, et l'anaérobiose stricte, il paraît y avoir une série d'états intermédiaires que les cultures en gélose profonde permettent jusqu'à un certain point d'apprécier. *A priori* il ne paraît pas impossible d'admettre que l'oxygène n'est bactéricide pour certaines espèces, que lorsqu'il se trouve en grande abondance dans le milieu. Contenu en très petite quantité, il favoriserait au contraire leur développement. Enfin certaines espèces rares ne pourraient supporter ni la privation absolue d'oxygène, ni la présence de l'oxygène dans les proportions qu'en contiennent les milieux aérés.

Quand les colonies sont très espacées, elle prennent généralement un développement plus grand, bien que pour certains microbes, elles restent toujours petites. On remarque, dans les tubes contenant peu de germes que la croissance se fait de bas en haut, les colonies du fond apparaissant toujours les premières. On peut alors apprécier beaucoup mieux les caractères morphologiques de chaque colonie individuelle. Elles ont les formes les plus variées : les unes ont l'aspect de sphères plus ou moins régulières ; d'autres se présentent en disques ou mieux en lentilles biconvexes qui se coupent souvent suivant des plans perpendiculaires, de manière à donner des figures papilionacées. Beaucoup ont une surface granuleuse ou mûriforme ; d'autres poussent des prolongements qui les rendent étoilées. Enfin, il en est qui, autour d'un noyau central plus ou moins opaque, se développent en houppes, en nébuleuses.

Leur coloration varie du blanc et du gris au jaune, au brun et même au noir. Mais on ne retrouve pas dans les cultures anaérobies les couleurs vives qui distinguent certaines espèces aérobie.

D'une manière générale la morphologie et la couleur des colonies n'est pas très constante pour une même espèce et c'est ce qui rend la séparation dans les pus polymicrobiens souvent très pénible.

Nous avons obtenu des caractères morphologiques plus nets pour certaines cultures en gélatine. Mais il est des anaérobies qui ne poussent qu'à la température de l'étuve, et qu'on ne peut par suite cultiver sur gélatine solide,

La production de gaz est un phénomène fréquent, et elle est constante pour certaines espèces. Mais son intensité est très variable. Certains microbes, en même temps qu'ils développent des gaz, font transsuder l'eau de la gélose, et l'on a alors des blocs de gélose nageant dans un liquide parfois limpide, parfois trouble. Les gaz ainsi développés sont presque toujours fétides. Mais les cultures, même alors qu'il n'y a pas dégagement gazeux, possèdent dans la plupart des cas une odeur fétide, différente selon les espèces, et très analogue à celle du pus d'où proviennent les microbes.

Pour examiner les bactéries qui forment une colonie, on puise, selon la technique que nous avons indiquée, une parcelle de cette colonie et on l'étale sur une lamelle au moyen de l'effilure de la pipette ; il faut frotter pendant assez longtemps pour désagréger la gélose, et la répartir en une couche sèche et bien uniforme. Si l'on n'a pu cueillir qu'une colonie très fine, il est bon de fermer à la flamme l'effilure de la pipette ; sinon la colonie risquerait de remonter dans la pipette par capillarité. On colore ensuite par un des procédés dont nous nous sommes servi pour colorer le pus : violet de gentiane en solution hydro-alcoolique ou Ziehl rapide à froid. Et l'on examine la préparation avec un objectif à immersion. La présence de la gélose est souvent une gêne ; elle se colore, en effet, et bien que le lavage lui fasse perdre de la couleur, si elle constitue une couche un peu épaisse, il est parfois difficile de bien reconnaître les contours des bactéries. Avec un peu d'habi-

tude, on arrive cependant à faire des préparations dont le fond est presque clair.

Beaucoup de microbes anaérobies présentent un polymorphisme très accentué, qui peut induire en erreur pour leur séparation. Les cocci prennent facilement des formes bacillaires; les bacilles s'allongent en filaments, ou bien encore se transforment en boules, en globules irréguliers que l'on a souvent de la peine à identifier. Il faut généralement un grand nombre de réensemencements successifs et d'examens microscopiques pour se convaincre que telles ou telles formes très disparates représentent une espèce identique.

La coloration par la méthode de Gram doit toujours être pratiquée. Certains anaérobies se décolorent complètement. D'autres ne se décolorent que d'une manière très imparfaite et variable, en sorte que dans deux générations successives, ils paraissent perdre le Gram une fois, et ne pas le perdre une autre. Souvent la décoloration semble être partielle. Enfin, il est des anaérobies qui gardent très nettement le Gram, et pour lesquels cette réaction est un signe de vie; les éléments morts le perdent alors, même dans les cultures relativement jeunes.

Il est nécessaire aussi de regarder les microbes vivants sans coloration, pour juger de leur mobilité. Les espèces mobiles conservent leurs mouvements dans l'agar qui, se trouvant comprimé, laisse sourdre du liquide entre la lame et la lamelle. Nous avons remarqué que les mouvements paraissaient plus actifs à la lumière du gaz naphthaliné ou d'un bec à incandescence, qu'à la

lumière du jour; la chaleur de la source lumineuse contribue sans doute à activer les mouvements. Il faut, pour bien voir, diaphragmer fortement, ou abaisser le système condensateur.

§ 8. — Inoculations.

Pour nos microbes aérobies, nous avons procédé aux inoculations aux animaux, suivant les méthodes ordinaires.

Pour les microbes anaérobies, nous avons inoculé généralement la culture en gélose dans le tissu cellulaire sous-cutané. Notre collègue et ami J. Hallé a mentionné dans sa thèse (1) les expériences qu'il a faites avec des cultures analogues. Il a montré que la gélose stérile introduite dans le péritoine ou sous la peau du cobaye ou du lapin, ne détermine aucun trouble de la santé chez l'animal, et qu'elle est très rapidement résorbée. On peut donc injecter des cultures en gélose, sans craindre de fausser les résultats de l'expérience.

Nous avons procédé de la manière suivante; un tube de culture jeune est cassé au niveau d'un trait de lime pratiqué vers son fond. On enfonce alors le bouchon de ouate de manière qu'il ne dépasse pas le bord supérieur du tube. On adapte l'extrémité cassée au corps de pompe d'une seringue de Roux stérilisée, et, en souf-

(1) J. HALLÉ, *Loc. cit.*

flant par l'extrémité supérieure du tube, on pousse le cylindre de gélose tout entier dans la seringue, qui est ensuite revissée. L'appareil est chargé et l'on n'a plus qu'à injecter la gélose dans le tissu cellulaire ou dans le péritoine.

Un des principaux inconvénients qui résultent de la difficulté de l'isolement des anaérobies, c'est que l'on n'obtient généralement de cultures pures qu'au bout d'un grand nombre de réensemencements successifs, qui font perdre sans doute aux microbes une partie de leur virulence primitive.

CHAPITRE III

OTORRHÉES CHRONIQUES

Nous avons examiné plusieurs cas d'otorrhée chronique, tous observés à l'hôpital des Enfants-Malades. Souvent, il est impossible d'avoir des renseignements sur l'origine de ces otorrhées. La notion étiologique d'une maladie infectieuse (fièvre éruptive, angine, etc.), manque parfois, et les parents, qui n'attribuent en général aucune importance à cette infirmité, se bornent à dire que l'enfant « a depuis longtemps, qu'il a toujours eu un écoulement d'oreille ». La plupart des enfants entrent à l'hôpital pour une toute autre affection, et c'est l'examen médical qui révèle une otorrhée dont les parents avaient négligé de signaler l'existence.

Dans tous les cas que nous avons observés, le pus était fétide. L'odeur est généralement plutôt fade, beaucoup moins prononcée que celle des pus mastoïdiens. La sécrétion est rarement constituée par du pus bien lié; c'est presque toujours une sérosité roussâtre ou grisâtre, mêlée de pus. Il est rare aussi que l'écoulement soit très abondant. Les enfants ne se plaignent de douleurs que lorsqu'il survient une complication aiguë;

et, le plus souvent, ils ignorent eux-mêmes l'existence de leur otorrhée. Cependant l'ouïe est toujours diminuée du côté malade. Il arrive que l'écoulement soit à peine visible pendant le jour; mais il se révèle presque toujours pendant la nuit, par les taches grisâtres ou jaunâtres qu'il laisse sur l'oreiller, et qui empèsent le linge.

Tous les pus d'otorrhée fétide que nous avons examinés contenaient des microorganismes, strictement anaérobies, en grande abondance; mais ces organismes étaient toujours mêlés à des microbes aérobies vulgaires, qui se trouvaient en minorité. En voici un exemple :

OBSERVATION I

Otorrhée chronique ancienne.

Augustine C..., 3 ans, entrée le 4 septembre 1897, salle Bilgrain n° 17 *bis*, dans le service de M. le Dr Brun. Cette enfant qui se trouvait dans la salle réservée aux chroniques, avait outre une trichophytie du cuir chevelu une coxalgie gauche, pour laquelle on avait fait jadis la résection de la hanche. Depuis un temps indéterminé, elle présentait à gauche une otorrhée fétide, sur l'origine de laquelle nous n'avons pu avoir de renseignements. Le pus, de couleur roussâtre, avait une odeur fade, extrêmement désagréable.

EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE

A. — *Colorations* faites le 1^{er} octobre 1897.

a) *Violet de gentiane simple* : nombreux leucocytes

polynucléaires à noyaux bien colorés; débris cellulaires mal colorés. Flore bactérienne très variée et abondante. On y voit par ordre de fréquence :

1) Des *spirochaetes* extrêmement fins et allongés, se colorant mal, et animés lorsqu'on les regarde directement dans le pus non coloré, de mouvement onduleux rapides. Ils remplissent le champ de la préparation ;

2) Un bâtonnet assez court et mince, bien coloré ;

3) Un cocco-bacille ;

4) Un long bacille fusiforme, souvent en diplobacille ;

5) Un gros bacille trapu ;

6) Des cocci en amas, souvent intracellulaires ;

7) Un diplocoque de grosseur moyenne, ne paraissant pas encapsulé.

Ces deux dernières formes sont infiniment plus rares que les précédentes.

Cette préparation est reproduite à la fig. 1 de notre planche. Elle est un bon exemple de l'aspect habituel des pus fétides d'origine otique.

b) *Gram* : Quelques diplocoques ; et un gros bacille trapu, restent seuls colorés.

B. — *Cultures* :

a) Sur tubes de gélose ordinaire inclinée, on n'obtient que très peu de colonies ; elles appartiennent à deux espèces différentes :

Un coccobacille perdant le Gram et exclusivement aérobie ;

Le bacille pseudo-diphtérique.

b) Les tubes de gélose sucrée en profondeur ont

donné de très nombreuses colonies strictement anaérobies ; mais quelques espèces seulement ont pu être isolées ; ce sont :

Le *bacillus perfringens* (1) (Veillon et Zuber) ;

Le *micrococcus fætidus* (Veillon) ;

Le *bacillus ramosus* (Veillon et Zuber) ;

Le *spirochaete* qui était, sur lamelles, l'espèce la plus abondante, n'a pas poussé. Ce microorganisme, que nous avons retrouvé dans plusieurs cas, n'a jamais pu être obtenu en culture sur aucun milieu. Il paraît analogue au *spirochaete* que l'on trouve dans la bouche, dans le tartre dentaire, et que Bernheim puis Vincent ont trouvé constamment, associé à un bacille allongé fusiforme, dans l'exsudat de la stomatite ulcéreuse.

On voit en somme que, dans ce pus, les microbes les plus abondants ne poussaient pas sur l'agar incliné ordinaire au contact de l'air. Nous n'avons eu sur ce milieu que très peu de colonies, dont les unes appartenaient à un organisme inoffensif, le bacille pseudodiphthérique, et les autres à un petit bacille indéterminé.

La grande majorité des bactéries, au contraire, étaient des anaérobies stricts, que les recherches de Veillon et Zuber et les nôtres ont montrés doués de pouvoir pathogène.

(1) Les noms par lesquels nous désignerons, dans ce chapitre et dans les deux suivants, les microbes anaérobies isolés, appartiennent à des espèces nouvelles étudiées par Veillon et Zuber (cf. *loco citato*) ou par nous, et dont notre chapitre VI renferme la description.

Les deux observations suivantes nous paraissent présenter un intérêt spécial, en raison du peu d'ancienneté de l'écoulement d'oreille. Dans le cas de Marguerite T..., l'otite aiguë primitive ne pouvait dater de plus de six semaines. Dans le cas d'Armand L..., elle datait de dix jours. Et cependant l'une et l'autre sécrétion contenaient plus de bactéries anaérobies que d'aérobies.

OBSERVATION II

Otorrhée chronique récente.

Marguerite T... 4 ans, 1/2, entrée le 22 décembre 1896, à la salle Bilgrain, service de M. le Dr Brun, pour une coxalgie droite.

Le 2 février 1897, elle fut prise d'une rougeole, au cours de laquelle se déclara une otite moyenne droite, suivie de perforation du tympan. Cette otite passa à l'état chronique, et devint une otorrhée fétide, à pus épais, jaune clair.

EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE

Pus recueilli le 17 mars 1897.

A. — Colorations.

a) *Violet de gentiane simple* : Parmi les bactéries très nombreuses qui remplissent le champ du microscope, on remarque, par ordre de fréquence, les formes suivantes :

1) Un petit coccus, très abondant, ne se mettant nettement ni en amas ni en chainettes ;

- 2) Un diplocoque plus gros ;
- 3) Un bacille-virgule, assez long, très rare ;
- 4) Un gros bacille court, à bouts arrondis ;
- 5) Un bacille court, beaucoup plus mince ;
- 6) Un petit cocco-bacille.

b) *Gram* : Restent colorés :

- 1) Nombreux petits cocci ;
- 2) Diplocoques plus gros ;
- 3) Un bacille virgule assez long ;
- 4) Quelques bacilles courts, minces.

B. — *Cultures.*

a) Les cultures sur gélose inclinée ordinaire permettent d'isoler deux variétés de streptocoque : l'un composé de chaînettes de 5 à 8 éléments, de grosseur assez variable, donne des colonies rondes, brillantes, transparentes, bleutées, de 1 à 3 millimètres de diamètre environ. C'est le streptococcus pyogènes. L'autre, composé de chaînettes plus longues, à éléments plus gros et plus réguliers, donne sur agar des colonies très fines, punctiformes, tout à fait transparentes. Il trouble à peine le bouillon ; réensemencé sur gélose en profondeur, il pousse exclusivement dans la zone aérobie. C'est le streptococcus tenuis de Veillon.

b) Par les cultures anaérobies, on parvient à isoler :
Le *bacillus ramosus* (Veillon et Zuber).

Un bacille court, à bouts arrondis, gardant le Gram et donnant de fines colonies blanchâtres.

Dans ce cas, il est évident que toutes les formes observées dans le pus n'ont pu être obtenues en cultures. Les aérobies étaient en assez grande abondance ;

mais les anaérobies s'y trouvaient en plus grande quantité.

OBSERVATION III

Otorrhée chronique récente.

Armand L..., 7 ans, entré le 25 septembre 1897, au pavillon Trousseau, dans le service de M. le Dr Sqvestre, à l'hôpital des Enfants-Malades.

L'enfant est tombé malade le 22 septembre, et s'est plaint d'un mal de gorge. A l'entrée, on lui trouve la gorge rouge; une fausse membrane gris sale, assez épaisse, mais peu étendue, recouvre la face antérieure de l'amygdale gauche; on en voit une autre, plus petite à la partie supérieure de l'amygdale droite. Un petit point blanchâtre à la base de la luette. Les ganglions sous-maxillaires sont augmentés de volume, surtout à gauche. La voix est un peu enrouée. Les parents racontent que dès le début de l'angine, l'enfant a éprouvé une vive douleur dans l'oreille gauche; deux jours après, un écoulement d'oreille mit fin aux douleurs. A son entrée, il avait une température de 39°,6; il redescendit à la normale en trois jours, en lysis. Notre collègue et ami Bonnus, interne du service, a fait l'examen bactériologique de l'exsudat amygdalien; il a conclu à la présence du streptocoque pyogène et à l'absence de bacille de Loeffler. Le pus otique a été recueilli par nous le 2 octobre, par conséquent à une date très voisine du début.

EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE

Pus jaunâtre, épais, légèrement fétide, recueilli le 2 octobre 1897.

A. — *Colorations.*

a) *Violet de gentiane simple.* Leucocytes mono et

polynucléaires assez nombreux. Bactéries modérément abondantes. On remarque par ordre de fréquence :

- 1) Des cocci isolés ;
- 2) Des diplocoques assez gros ;
- 3) Un bacille trapu ;
- 4) Quelques cocci en amas.

b) *Gram* : toutes les formes restent colorées, sauf les cocci isolés.

B. — *Cultures* :

a) Sur agar ordinaire incliné deux espèces ont été isolées :

Le streptocoque pyogène ;

Le staphylocoque doré.

b) En agar sucré en profondeur, nous avons obtenu également deux espèces strictement anaérobies :

Un coccus produisant des gaz et perdant le Gram (*staphylococcus parvulus* de Veillon et Zuber).

Le *bacillus perfringens* (Veillon et Zuber).

Le staphylococcus parvulus répond au coccus isolé perdant le Gram observé dans le pus. Sur lamelles, comme en cultures, il représentait l'espèce la plus abondante.

Il est intéressant de retrouver dans l'otorrhée le streptocoque pyogène que l'on avait considéré comme l'agent pathogène de l'angine. Mais il est surtout frappant de voir, que dix jours après le début de l'otite, le pus de l'oreille contenait des anaérobies en quantité prépondérante. Il en est de même dans le cas de Marguerite T... : le streptocoque pyogène se trouvait dans

le pus, mais en moins grande abondance que les microbes anaérobies.

N'est-il pas permis de se demander si, dès le début, l'otite aiguë ne contenait pas des microbes anaérobies, chez ces deux malades? Nous n'oserions l'affirmer, mais nous verrons plus loin qu'il est de bonnes raisons pour croire à l'existence d'un type d'otite aiguë primitive à anaérobies.

Bornons-nous ici à constater la présence des anaérobies stricts dans les otorrhées fétides anciennes ou récentes, et leur association constante à des microbes aérobie. Nous aurions pu en donner d'autres exemples; mais ceux que nous avons choisi nous paraissent assez typiques, pour qu'il soit inutile de prolonger cette énumération.

Comment expliquer la présence de ces organismes strictement anaérobies dans une cavité ouverte? La caisse, en effet, à travers la perforation tympanique qui donne issue au pus, communique plus ou moins largement avec le conduit auditif externe, par conséquent avec l'air extérieur; il ne semble donc pas, au premier abord, que les conditions soient favorables au développement de bactéries qui ne poussent qu'en milieu purgé d'air.

C'est ici qu'intervient le rôle des microbes aérobie dont nous signalions la présence constante dans ces sécrétions. Il suffit que ces organismes avides d'oxygène soient présent dans une cavité anfractueuse, insuffisamment aérée, ne communiquant avec l'extérieur que par un orifice étroit, pour que s'emparant de tout l'oxygène,

ils en privent le milieu, et créent ainsi les conditions de l'anaérobiose. Cette sorte de symbiose des anaérobies et des aérobies dans des milieux qui ne paraissent pas offrir de conditions favorables à la vie sans air, est un phénomène dont Pasteur avait vu déjà toute l'importance. Il se produit constamment dans la nature; par exemple, au voisinage de la surface du sol des espèces anaérobies très nombreuses peuvent se développer, grâce à la présence simultanée d'espèces avides d'oxygène. Plusieurs expérimentateurs, en particulier Roux, ont même utilisé ce phénomène pour faciliter la culture des anaérobies en milieu artificiel. La présence des anaérobies dans les otites chroniques n'est qu'un cas particulier de ce phénomène général.

Il n'est même pas nécessaire que les aérobies soient contenus en très grande quantité dans le pus, et nous avons vu que par le fait ils constituaient une minorité. On peut s'en convaincre aisément en semant un pus d'otorrhée fétide, dans un tube de bouillon ordinaire, comme on fait pour cultiver les aérobies en culture pure. Au bout de 24 heures d'étuve à 37°, ou même à la température ordinaire, on verra que le bouillon a cultivé abondamment, et qu'il contient un mélange de microbes variés, dont les uns, réensemencés sur les milieux solides aérés développent des colonies, dont les autres beaucoup plus nombreux ne poussent au contraire à l'état de pureté que dans des milieux privés d'air.

Quand à l'origine des microorganismes trouvés dans les écoulements d'oreille, on peut admettre que quelques-uns d'entre eux viennent du dehors, qu'ils ont été

apportés soit par des objets de pansement, soit par des instruments ou des doigts malpropres. Mais, à coup sûr, c'est là une exception. La règle est que les agents microbiens trouvés dans les otorrhées proviennent des cavités naso et bucco-pharyngiennes où on les retrouve presque constamment, soit à l'état sain, soit à l'état pathologique, et qu'ils ont suivi pour pénétrer dans la caisse, le conduit de la trompe d'Eustache.

En résumé, les écoulements d'oreille fétides sont le plus souvent polymicrobiens ; ils contiennent en grande quantité des espèces anaérobies et, en plus petite quantité, des espèces aérobies qui contribuent à fournir aux premières les conditions de l'anaérobiose.

CHAPITRE IV

MASTOÏDITES AIGÜES NON COMPLIQUÉES

Nous avons eu l'occasion de faire l'étude d'un assez grand nombre de cas de mastoïdite aiguë. Nous ne nous occuperons, dans ce chapitre, que de ceux où l'infection était limitée au rocher, réservant pour le chapitre suivant ceux où elle s'est propagée aux organes voisins et ceux où elle a produit une septicémie.

Nos cas se divisent très nettement en deux groupes. Dans le premier, le pus mastoïdien était sans odeur appréciable. Dans le deuxième, il avait une odeur fétide. Cette distinction qui, d'après ce que nous avons dit plus haut, a une importance considérable au point de vue bactériologique, n'est peut-être pas non plus sans intérêt au point de vue clinique. Nos faits sont trop peu nombreux encore pour que nous en puissions tirer des conclusions fermes, applicables au pronostic de ces affections. Cependant, il nous a paru que les mastoïdites non fétides et en particulier une variété de ces mastoïdites évoluaient généralement d'une manière relativement bénigne, et que la trépanation était suivie d'une guérison rapide. On verra qu'il n'en est pas de même pour les mastoïdites fétides.

La forme non fétide est certainement la plus rare; nous n'en avons rencontré que trois cas. Chaque fois l'infection mastoïdienne avait succédé à une otite aiguë ou à une otite chronique de date récente.

OBSERVATION IV

Mastoïdite aiguë non fétide. — Trépanation. — Guérison.

André R..., âgé de 4 mois, opéré le 9 décembre 1897, à la salle Bilgrain, par M. le D^r Brun, à l'hôpital des Enfants-Malades.

L'enfant, né à terme, est élevé au biberon. La mère a remarqué que depuis deux mois, l'enfant incline sa tête à droite, et qu'il présente un écoulement d'oreille du même côté. Aucune maladie antérieure.

Il y a 8 jours, fièvre, gonflement et rougeur derrière le pavillon de l'oreille droite. L'enfant est amené à l'hôpital une semaine après le début; il présente au niveau de la région mastoïdienne droite une tuméfaction fluctuante, au niveau de laquelle la peau est rouge. Incision arciforme à 1 centimètre en arrière du sillon rétro-auriculaire. Issue d'un pus jaune-verdâtre, strié de sang, et dont la quantité est à peu près celle que contiendrait une cuillerée à dessert; ce pus n'est pas fétide. La mastoïdite perforée est trépanée, elle contient un peu de pus de même nature.

A partir de l'opération, l'affection a évolué rapidement et normalement vers la guérison.

EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE (9 décembre).

Le pus, vert-pistache, bien lié, sans odeur, est étalé sur lamelles et coloré:

1) *Violet de gentiane en solution hydro-alcoolique*: nombreux leucocytes polynucléaires. On ne note qu'une

seule forme microbienne, relativement peu abondante : ce sont des cocci assez gros, de forme lancéolée, le plus souvent en diplocoques, parfois en courtes chaînettes, de 4, 6 ou 8 éléments ;

2) *Gram*: on voit les mêmes coccus fortement colorés ;

3) *Ziehl rapide à froid*: on retrouve les mêmes éléments, souvent entourés d'une capsule bien colorée.

Des *ensemencements* sont pratiqués, par dilutions successives :

a) Sur trois tubes d'agar incliné ordinaire ;

b) Sur deux tubes de liquide d'ascite coagulé ;

c) Dans trois tubes d'agar sucré en profondeur.

Il est fait à une souris une inoculation de pus sous la peau de la cuisse.

10 décembre. — Dans les tubes de gélose sucrée en profondeur, on trouve des colonies blanchâtres, discoïdes, larges, translucides, qui occupent toute la hauteur de la gélose. Elles sont composées de cocci gardant le Gram.

Les tubes d'agar ordinaire sont demeurés stériles.

Sur les tubes d'ascite, on trouve, sur le coagulum, quelques colonies d'un blanc bleuâtre, fines, à peine saillantes. Trouble assez abondant dans le liquide exsudé. Dans ce trouble, on retrouve, au microscope, le diplocoque avec sa capsule.

La souris est morte au bout de 24 heures avec un abcès de la cuisse, où l'on retrouve le diplocoque encapsulé. On n'en trouve pas dans le sang du cœur qui est ensemencé.

Les colonies d'un tube d'ascite sont alors semées sur gélose-ascite de Wertheim et sur bouillon ascite. Le liquide du tube d'ascite est inoculé à une deuxième souris.

11 décembre. — Le tubeensemencé avec le sang du cœur de la première souris est demeuré stérile. La deuxième souris est morte au bout de 24 heures. On retrouve le diplocoque encapsulé dans l'abcès qui s'est formée au point d'inoculation. On le retrouve encore dans le sang du cœur, où sa présence est vérifiée par des ensemencements ultérieurs positifs. Enfin le diplocoque a également poussé dans les tubes de Wertheim ensemencés la veille.

OBSERVATION V

Mastoïdite aiguë. — Trépanation. — Guérison.

Georges P..., âgé de 1 an, entré le 19 avril 1897, dans le service de M. le Pr Lannelongue, suppléé par M. le Dr Broca, à l'hôpital Trousseau.

L'enfant, nourri au sein, sevré depuis 15 jours, a commencé, le jour du Mardi-Gras, une rougeole, suivie d'une bronchopneumonie. Depuis trois ou quatre jours il présente derrière l'oreille droite une tuméfaction douloureuse qui est devenue fluctuante. *L'oreille n'a commencé à couler que 7 à 8 jours avant l'apparition de la tuméfaction mastoïdienne,*

Le 19 avril, incision rétro-auriculaire. Il s'échappe du pus en abondance; la cavité contient en outre des masses d'apparence fongueuse. L'apophyse mastoïde porte une petite perforation au niveau de la limite horizontale supérieure du conduit. Trépanation en avant de ce point. On trouve dans l'apophyse mastoïde des

masses choléstéatomeuses et des débris fongueux. On pénètre de suite dans l'aditus. Le pus, verdâtre, bien lié, est dépourvu d'odeur. Tamponnement iodoformé.

L'enfant a été amené régulièrement aux pansements. La guérison était complète, le 8 juin de la même année.

EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE (résumé)

Le pus examiné sur lamelles ne renfermait qu'une seule variété de formes bactériennes: des diplocoques lancéolés, gardant le Gram, entourés d'une capsule nette que le Ziehl colore bien.

Les cultures, en milieu aéré, comme en milieu privé d'air, ne décèlent qu'une seule espèce microbienne: le pneumocoque.

Dans ces deux cas, il s'agissait donc d'une *mastoïdite à pneumocoque*, succédant à un écoulement d'oreille récent, et caractérisée par la non-fétidité du pus et la bénignité de l'évolution. Le pneumocoque se trouvait dans le pus en culture pure. Le troisième fait de mastoïdite aiguë non-fétide (Obs. VI) que nous possédions est relatif à une fillette de 12 ans, opérée en ville par M. le Dr Tuffier, qui nous pria de l'examiner au point de vue bactériologique. L'enfant qui n'avait pas d'antécédents pathologiques, avait été prise subitement de douleurs dans l'oreille gauche, puis une tuméfaction douloureuse s'était développée au niveau de l'apophyse mastoïde. M. le Dr Tuffier fit la trépanation

de l'apophyse, qui contenait un pus jaunâtre non-fétide. Pendant 3 semaines environ, l'enfant fit de grandes oscillations thermiques, et présenta des symptômes de méningisme qui firent croire à un abcès cérébral. La trépanation du crâne fut pratiquée deux fois, d'abord au niveau du lobe temporo-sphénoïdal, puis au niveau du cervelet, mais sans résultat. Les symptômes finirent par s'amender, et l'enfant guérit.

Nous avons pratiqué deux examens bactériologiques successifs, plusieurs jours après l'ouverture de la mastoïde. La brèche osseuse largement ouverte était tamponnée avec de la gaze au sublimé. Le pus, sur lamelles, contenait exclusivement un diplocoque assez gros, gardant le Gram, et peu abondant. Craignant que le sublimé n'eût diminué beaucoup la vitalité des microbes, nous fîmes des ensemencements sur bouillon ascite, et sur liquide d'ascite coagulé, outre les milieux aérobie et anaérobie ordinairement employés. Cette précaution nous permit d'isoler un streptocoque possédant tous les caractères du *streptocoque pyogène*, et qui, inoculé dans l'oreille d'un lapin, détermina chez lui l'apparition d'un érysipèle typique. Ce microorganisme existait à l'état pur dans le pus. S'il n'a pas poussé sur agar ordinaire, c'est que sa vitalité était compromise par le sublimé. Il est assurément regrettable que nous n'ayons pu recueillir le liquide pathologique au moment même de la trépanation. Mais il paraît certain d'autre part que les phénomènes d'infection générale que présenta la malade étaient dûs au seul streptocoque.

Ces trois faits prouvent donc qu'il peut exister, ainsi que l'avaient dit les auteurs qui nous ont précédés, des mastoïdites aiguës dues à une seule variété de microbe, le pneumocoque ou le streptocoque. Nous ajouterons que ces faits sont rares, et qu'ils sont caractérisés par la non-fétidité du pus.

Dans la grande majorité des cas, le pus des mastoïdites est fétide. L'infection peut succéder à une otorrhée de date récente; mais le plus souvent l'otorrhée est ancienne. Elle est toujours fétide. Nous avons étudié un grand nombre de mastoïdites appartenant à ce groupe et sans exception, nous y avons trouvé des microorganismes strictement anaérobies en grande quantité; les microbes aérobies peuvent manquer; quand ils existent, ils sont beaucoup moins nombreux que les anaérobies. Mais souvent nous avons dû nous en tenir à cette constatation, et nous n'avons pu poursuivre l'étude de ces microorganismes anaérobies que dans un nombre assez restreint de cas. Nous donnons ici trois observations qui peuvent servir de types.

OBSERVATION VII

Mastoïdite droite consécutive à une otorrhée fétide.

Trépanation. Guérison.

Marthe D..., 4 ans, entrée le 20 avril 1897, salle Giralès, à l'hôpital Trousseau, dans le service de M. le P^r Lannelongue, suppléé par M. le D^r Broca.

L'enfant, d'une bonne santé habituelle, a eu, à l'âge de 2 ans, une rougeole, à la suite de laquelle l'oreille droite s'est mise à couler. Tout dernièrement, coqueluche. Il y a 3 semaines, douleurs au niveau de l'oreille droite et rougeur inflammatoire au niveau de l'apophyse mastoïde.

A son entrée, l'enfant présente une tuméfaction rouge et fluctuante derrière le pavillon de l'oreille ; le pavillon est attiré en avant. Chute de la paroi postéro-supérieure du conduit auditif externe, par où s'écoule un pus abondant et fétide.

Le jour même, M. Mouchet, interne du service, incise ce phlegmon rétro-auriculaire ; il s'échappe un flot de pus horriblement fétide, qui est recueilli dans une pipette stérile. Les parois de l'abcès sont tapissées de fausses membranes épaisses que l'on enlève par grattage. L'apophyse mastoïde présente, au lieu d'éléction de la trépanation, une perforation qui a les dimensions d'une pièce de 20 centimes en argent. L'orifice est agrandi. On retire, à la curette, une grande quantité de masses cholestéatomateuses, et on arrive de suite à l'aditus. On fait sauter sur le protecteur de Stacke le mur de la logette, et on nettoie la caisse. Tamponnement iodoformé.

Pas de fièvre les jours suivants. Les pansements ont été pratiqués régulièrement et l'enfant est rendue à sa famille le 22 avril. Elle est venue depuis se faire panser à la consultation externe. Actuellement, la cavité rétro-auriculaire est épidermée. Seule, la caisse suppure encore un peu.

EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE

A. — *Colorations* :

a) *Violet de gentiane simple* : les microorganismes sont extrêmement abondants ; on reconnaît par ordre de fréquence :

1) Un coccus petit, se mettant en amas, très fréquent ;

2) Un coccus plus gros formant des chaînettes de cinq ou six éléments ;

3) Un diplobacille court ;

4) Un coccobacille très petit, en chaînettes ;

5) Un bacille moyen très mince.

b) *Gram*.

1) Un petit coccus se mettant en amas ;

2) Un petit coccus formant des chaînettes ;

3) Un coccus plus gros formant des chaînettes.

B. — *Cultures* :

a) *Cultures sur gélose inclinée ordinaire*. Un premier ensemencement étant demeuré stérile, nous avons repris le lendemain le pus primitif, conservé dans une pipette stérile, pour le reporter sur gélose inclinée. Nous avons obtenu ainsi deux espèces aérobies que nous avons isolées, et qui, sans aucune doute, ne se trouvaient qu'en très petite quantité dans le pus :

1) Un streptocoque ;

2) Un petit bacille très court, très mince, formant en culture de petits amas, gardant le Gram, et que nous n'avons pu identifier à une espèce connue.

b) *Cultures en gélose sucrée en profondeur*. Les micro-organismes anaérobies étaient extrêmement abondants. Nous n'avons pu obtenir de cultures pures de deux sortes de bacilles, dont l'un incurvé, qui paraissaient n'exister qu'en petite quantité. En revanche nous avons pu isoler les espèces strictement anaérobies suivantes :

1) Le *micrococcus fætidus* (Veillon) ;

2) Le *staphylococcus parvulus* (Veillon et Zuber) ;

3) Un petit coccus gardant le Gram et donnant dans les tubes de gélose sucrée en profondeur un anneau de colonies situé à la zone-limite, et séparé des colonies de la moitié inférieure par un espace stérile ayant une hauteur de 1 centimètres et demi environ ;

4) Un petit bacille très mince, parfois bifurqué, se colorant bien par le violet de gentiane simple, gardant le Gram, et poussant exclusivement à la zone-limite, où ses colonies, fines, jaunâtres, forment un anneau ayant une hauteur d'un demi à un centimètre.

Ce cas nous paraît particulièrement intéressant au point de vue bactériologique. Le pus contenait en effet, outre un streptocoque aérobic, trois variétés de cocci strictement anaérobies. Ces microorganismes ne peuvent être distingués sur lamelles, par leur aspect morphologique, des cocci aérobies vulgaires (streptocoque, staphylocoques, etc.) Si l'on avait fait uniquement des ensemencements en milieu aéré, la présence du streptocoque sur ces milieux aurait fait conclure, avec une apparence de raison, que toutes les formes en cocci observées dans le pus correspondaient à ce microorganisme ; or les cultures en milieu privé d'air ont permis de démontrer au contraire qu'elles appartenaient en majorité à des espèces anaérobies. La notion de l'existence de cocci strictement anaérobies est donc très importante à connaître. Ces organismes se rencontrent fort souvent dans les pus fétides, et ils ont été à coup sûr une cause d'erreur fréquente dans l'interprétation bactériologique des faits publiés jusqu'ici.

OBSERVATION VIII

**Mastoi'dite droite consécutive à une otorrhée fétide.
Trépanation.**

Marthe R..., 9 ans, opérée le 23 avril 1897, par M. le Dr Broca, à l'hôpital Trousseau.

Nous ne possédons aucun renseignement sur cette malade, dont l'observation clinique a été perdue. Nous savons seulement que la mastoi'dite, siégeant à droite, était consécutive à une otorrhée chronique.

EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE

Le pus mastoi'dien, bien lié, jaunâtre, fétide, a été pris au moment de la trépanation.

A. — *Colorations* :

a) *Violet de gentiane simple* : les microorganismes, très-abondants, se présentent sous les formes suivantes :

- 1) Un coccus se disposant en courtes chaînettes ;
- 2) Un coccus en amas, moins bien coloré ;
- 3) Un diplobacille court ;
- 4) Un bacille court incurvé ;
- 5) Quelques bacilles assez longs, mal colorés, parfois incurvés ;

b) *Gram* : une seule forme reste colorée : le coccus en chaînettes.

B. — *Cultures* :

a) Sur les tubes de gélose ordinaire inclinée, une seule colonie a poussé ; elle est formée de bacilles possédant tous les caractères du *proteus vulgaris*.

b) Les cultures en gélose sucrée en profondeur permettent d'isoler les formes suivantes, strictement anaérobies :

1) Un bacille, de dimension moyenne, trapu, rectiligne, se colorant bien par le violet de gentiane, perdant nettement le Gram, ne se mettant pas en chaînettes. Il donne en gélose sucrée en profondeur des colonies grisâtres, floconneuses, pouvant, quand elles sont bien isolées, atteindre un centimètre de diamètre.

2) Un streptobacille, se colorant mal par le violet de gentiane, perdant nettement le Gram; il forme des chaînettes, souvent assez longues, composées d'éléments effilés, d'aspect granuleux; ces chaînettes se placent souvent par faisceaux parallèles. Il donne, dans la profondeur de la gélose, des colonies bien limitées, opaques, d'un blanc jaunâtre, sphériques ou discoïdes.

3) Le *micrococcus fœtidus* (Veillon).

4) Le *staphylococcus parvulus* (Veillon et Zuber).

Le proteus qui n'a donné qu'une seule colonie sur tubes d'agar incliné et qui, bien que facultativement anaérobie, n'a pas été retrouvé dans les tubes d'agar profond sucré doit évidemment être considéré comme une impureté accidentelle. Ce cas peut donc rentrer dans les mastoïdites dues exclusivement à des anaérobies stricts. Ici encore, les formes en coccus dominaient, et appartenaient à des espèces anaérobies.

OBSERVATION IX

Otorrhée chronique. — Mastoïdite. — Trépanation
Mort par tuberculose généralisée.

Aimé B..., âgé de 3 ans et demi, entré le 21 mai 1897, dans le service de M. le Dr Netter, à l'hôpital Trousseau.

L'enfant est conduit à l'hôpital par une voisine, qui ne fournit aucun renseignement ; elle dit seulement que le petit malade avait depuis longtemps un écoulement d'oreille.

On trouve à l'entrée, dans le sillon rétro-auriculaire — le côté n'est pas mentionné — un volumineux abcès effaçant la moitié supérieure du sillon. La peau est rouge, tendue et amincie. Otorrhée fétide. L'état général de l'enfant est mauvais. Tuberculose pulmonaire. Plusieurs gommes tuberculeuses cutanées, en divers points, du tégument.

Le 21 mai. — Incision rétro-auriculaire. Il s'échappe une sérosité purulente, fétide, très abondante. L'apophyse, qui porte une large perforation spontanée, est évidée à la curette ; elle contient des masses fongueuses. On fait sauter la paroi postérieure de la caisse, et l'on tombe sur des fongosités. Le marteau est intact ; l'enclume est réduit à sa longue branche et à son col ; la branche courte est détruite. Pansement iodoformé.

L'enfant est ensuite ramené régulièrement au pansement. Sa plaie mastoïdienne, qui avait eu d'abord un bon aspect et qui s'était mise à bourgeonner, commença à suppurér énormément à partir du 15 juin, en même temps que la tuberculose pulmonaire faisait des progrès et que l'état général devenait de plus en plus mauvais. L'enfant mourut en ville, pendant la première semaine d'août. L'autopsie n'a pas été faite.

EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE

A. — *Colorations.*

RIST.

8

a) *Violet de gentiane simple*. Microbes modérément abondants. On distingue les formes suivantes :

- 1) Un coccus isolé, très fréquent ;
- 2) Un petit cocco-bacille ;
- 3) Un bacille fin assez allongé ;
- 4) Un bacille moyen ;
- 5) Un filament très rare.

b) *Gram*. Restent colorés :

- 1) Un coccus isolé ;
- 2) Un bacille.

B. — *Cultures* :

a) Les tubes de gélose inclinée ordinaire sont demeurés stériles.

b) Les cultures en gélose sucrée en profondeur ont permis d'isoler les types suivant strictement anaérobies :

1) Un coccus irrégulier gardant le Gram, et formant en culture de petits amas ;

2) Un coccus beaucoup plus petit, gardant le Gram ;

3) Un petit cocco-bacille perdant le Gram ;

4) Un filament donnant de petites colonies brunes, compactes, difficiles à écraser ;

5) Un bacille, parfois bifurqué, gardant le Gram et formant un anneau à la zone-limite, sans pousser dans la profondeur.

La recherche du bacille tuberculeux n'a pas été faite.

Les conclusions que ces faits imposent peuvent se résumer ainsi : les microorganismes anaérobies jouent un rôle considérable dans l'étiologie des mastoïdites

suppurées ; on les trouve toujours en nombre prépondérant, et souvent seuls, dans tous les cas où le pus est fétide. Ces microorganismes se développent dans la cavité de la caisse, malgré la perforation du tympan, à la faveur des espèces aérobies qui s'emparent de tout l'oxygène du milieu. Les espèces aérobies sont en très petite quantité et sont d'ordinaire des saprophytes vulgaires privés de pouvoir pathogène. Sans doute on peut trouver aussi des aérobies pathogènes, tels que le streptocoque, qui ajoutent leur influence à celle des anaérobies. Mais ces derniers microbes, doués d'un grand pouvoir pathogène, suffisent généralement à rendre compte des accidents observés. Leur présence ne contribue pas seulement à donner au pus son odeur fétide ; elle crée une infection et une intoxication, qui peuvent, ainsi que nous le montrerons au chapitre suivant, se propager par voisinage, et se généraliser par la voie sanguine.

CHAPITRE V

SUPPURATIONS OTIQUES COMPLIQUÉES D'INFECTIONS DE VOISINAGE OU DE SEPTICÉMIES GANGRÉNEUSES.

Les faits qu'on trouvera dans ce chapitre ont tous trait à des infections où le caractère gangréneux et spécialement grave des processus dûs aux microorganismes anaérobies est des plus remarquables. Tous les cas que nous en connaissons se sont terminés par la mort. Les mastoïdites fétides non compliquées peuvent guérir par la trépanation, bien qu'elles comportent certainement un pronostic beaucoup plus sérieux que les mastoïdites non fétides. Mais sitôt que l'infection se propage elle acquiert une gravité exceptionnelle. La localisation le plus souvent encéphalique, méningée ou sinusienne de ces complications compte évidemment pour beaucoup dans la fatalité presque générale du pronostic. Mais la nature des agents infectieux, l'intoxication putride qu'ils déterminent, le caractère gangréneux des lésions qu'ils provoquent jouent aussi un rôle considérable. Nous ne connaissons guère d'infections qui, plus que celle-ci, portent une atteinte rapidement profonde à l'état général.

La fréquence avec laquelle on les observe, en parti-

culier chez l'enfant, leur donne un grand intérêt clinique. Elles ne sont pas moins importantes à étudier au point de vue de la bactériologie et de la pathologie générale. Les cas que nous avons réunis ici offrent des exemples de la plupart des complications infectieuses qui peuvent survenir au cours des suppurations fétides de l'oreille.

OBSERVATION X

Mastoïdite suppurée. — Phlébite du sinus latéral. — Infarctus gangréneux multiples dans les deux poumons. — Méningite suppurée. — Trépanation de l'apophyse mastoïde. — Mort.

Philippe D..., 9 ans 1/2, entré le 4 décembre 1896, salle Giralès, à l'hôpital des Enfants-Malades, dans le service du Dr de Saint-Germain, suppléé par M. le Dr Brun.

Les parents nous apprennent que l'enfant a depuis un an un écoulement d'oreille à gauche. Depuis huit jours, il a été pris de fièvre et de douleurs dans l'apophyse mastoïde. L'état s'est aggravé depuis deux jours.

A l'entrée (10 h. du soir), on note l'état suivant : décubitus dorsal, facies grippé. Le malade pousse des gémissements inarticulés. Aspect absolument typhoïde ; lèvres sèches ; fuliginosités ; la langue est humide et blanche.

L'enfant, qui répond aux questions, se plaint surtout de céphalée frontale, et d'un point de côté à droite. Submatité à la base droite du poumon. Diminution du murmure vésiculaire, sans souffle ni égophonie. Le ventre est douloureux surtout du côté droit ; il est aplati. Matité splénique augmentée.

L'apophyse mastoïde gauche est le siège d'une tuméfaction douloureuse qui descend jusqu'à l'angle de la mâchoire, en suivant la gaine du muscle sterno-cléido-mastoïdien. Au niveau de

l'apophyse mastoïde, la peau porte une incision transversale d'un centimètre environ, faite par le médecin de la ville. En pressant sur l'apophyse on ne fait pas sourdre de pus par les lèvres de la plaie. On sent au niveau de l'oreille une odeur extrêmement fétide; mais il n'y a pas d'écoulement appréciable par le conduit auditif externe.

Température : 39°, 5. Respir. : 50. Pouls résistant, bien frappé, battant à 115.

5 décembre. — L'état s'est aggravé; le pouls est devenu incomptable; la respiration dépasse 50. L'enfant ne répond plus aux questions. Langue sèche.

Opération pratiquée à 10 heures du matin, par M. le Dr Brun, sous chloroforme. Incision verticale courbe dans le sillon rétro-auriculaire. Les lambeaux saignent peu, et le sang qui s'écoule est noir. Au niveau de l'ancienne incision, les tissus ont un aspect verdâtre et comme sphacélé. Trépanation de l'apophyse à la gouge et au maillet. On rencontre quelques gouttes de pus qui paraissent venir de la partie supérieure de l'orifice de la trépanation, et qui sont aspirées dans une pipette stérile. La direction d'où vient le pus engage à poursuivre la recherche d'un abcès présumé du côté du lobe temporo-sphénoïdal. La face supérieure du rocher offre un aspect nécrosique. On incise la dure-mère; la substance cérébrale, mise à nu, fait hernie. Mais l'exploration du lobe ne fait découvrir aucune collection. Pansement à la gaze stérilisée. *Mort* une demi-heure après l'opération.

Autopsie pratiquée 24 heures après la mort.

Adhérences pleurales à droite et à gauche. Les deux poumons présentent à leur surface de nombreuses taches ayant l'aspect caractéristique de la gangrène, et correspondant à des noyaux gangréneux qui font saillie sous la plèvre. On trouve plusieurs noyaux analogues dans la profondeur du parenchyme. A l'incision de ces foyers on tombe sur de petites cavernes remplies d'un putrilage noirâtre horriblement fétide.

Le péricarde contient quelques grammes de sérosité. Le cœur est normal.

Le foie et la rate sont augmentés de volume.

Les reins ne présentent rien d'anormal.

Après enlèvement de la calotte crânienne, on trouve le cerveau très congestionné, sillonné à sa surface de veines gorgées de sang. Caillot purulent dans le sinus latéral gauche, se prolongeant jusque dans la veine jugulaire interne. Le rocher présente un aspect nécrosé, verdâtre; en le sciant en deux suivant sa longueur, on trouve les parois de la caisse profondément altérées; la cavité est remplie d'un pus concret horriblement fétide. Au contact du rocher, on trouve à la surface du lobe temporo-sphénoïdal une petite plaque de méningite circonscrite, grande comme une pièce de 2 francs, avec exsudat purulent. Pas d'abcès encéphalique.

EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE

L'*examen bactériologique* a porté sur le pus mastoïdien, pris au moment de la trépanation, sur les infarctus gangréneux du poumon, sur le sang du cœur et l'exsudat méningé. Mais ce cas étant le premier que nous ayons examiné, à un moment où la technique des cultures anaérobies était encore nouvelle pour nous, nous n'avons pu isoler d'espèces. Le pus mastoïdien, examiné sur lamelles, contenait un nombre énorme de bactéries variées : de petits bacilles courts, des bacilles fusiformes, ou filamenteux, ou incurvés, des cocci en chaînettes, des spirochaetes. Le sang du cœur, l'exsudat méningé, les foyers pulmonaires contenaient des formes moins nombreuses; un bacille-virgule et un bacille fusiforme s'y trouvaient associés à un diplocoque gardant le Gram. Les cultures sur agar incliné

donnèrent du streptocoque pyogène. Les cultures en agar sucré en profondeur nous firent constater la présence d'un grand nombre d'espèces strictement anaérobies, dont plusieurs présentaient des formes analogues à celles qu'on avait observées dans les différents liquides ensemencés, mais dont aucune ne put être isolée.

OBSERVATION XI

Otite chronique avec mastoïdite. — Syndrome d'ictère grave. Mort. —
A l'autopsie, gangrène pulmonaire en foyers disséminés et circonscrits.

Observation clinique due à l'obligeance de notre collègue Deguy.

Le nommé V..., âgé de 18 ans, entre à la salle Chauffard, lit n° 27, dans le service de M. le Dr Huchard, à l'hôpital Necker, le 7 février.

Le malade dit être souffrant depuis trois jours. Le début de l'affection avait été marqué par un frisson très violent qui nécessita aussitôt le séjour au lit. Dès le lendemain apparut un ictère prononcé, avec rachialgie, céphalée intense et anorexie absolue. Il est impossible d'obtenir aucun renseignement sur les antécédents héréditaires et personnels du malade, qui, toutefois, affirme n'avoir jamais eu d'ictère auparavant.

A son entrée, on note un ictère très foncé. Le tronc et les membres sont couverts de taches purpuriques. Grandes taches ecchymotiques sur la conjonctive droite. Suintement sanguinolent continu de la langue, des gencives et des narines, qui sont couvertes de sang coagulé. Les membres supérieurs sont agités de mouvements carphologiques. Il y a du délire actif ; le malade se lève de temps en temps et veut sortir de son lit ; il prononce des paroles incohérentes. L'auscultation du cœur et des

poumons ne révèle aucun symptôme anormal. Le pouls est filiforme, rapide, battant à 120. Température: 39° 5.

Les urines sont assez fortement albumineuse, et contiennent des pigments biliaires. Les selles sont roussâtres, mais non décolorées. Diarrhée continuelle. MM. Huchard et Rendu portent le diagnostic d'ictère grave de cause indéterminée.

Malgré les injections de sérum et la balnéation froide le malade succombe le soir même de son entrée à l'hôpital.

Autopsie pratiquée 24 heures après la mort. A l'ouverture du péricarde, quelques grammes de liquide agonique, légèrement teinté en vert. Le cœur est plutôt petit, ne présentant extérieurement rien d'anormal. A la coupe de la pointe, hypertrophie assez marquée de la paroi du ventricule gauche. Foyers jaunâtres suivant le trajet des vaisseaux, avec un léger piqueté hémorragique. On observe en outre de petites plaques blanchâtres sous-péricardiques. L'aorte est saine, petite, mesurant cinq centimètres de circonférence au niveau de la ligne sus-sigmoïdienne. L'oreillette gauche, petite, contient un caillot cruorique, agonique. La valvule mitrale ne présente aucune lésion appréciable à l'œil nu, si ce n'est quelques foyers d'apoplexie sous-endocardique. La tricuspide est saine, le cœur droit un peu dilaté.

La plèvre gauche présente un dépoli très marqué, au niveau du lobe pulmonaire inférieur. Pas d'adhérences. Sous la plèvre, on trouve d'assez nombreuses petites taches ecchymotiques. La séreuse pleurale est colorée par la bile.

Au niveau du lobe supérieur du poumon gauche, on trouve un œdème très accentué avec ruisellement de sérosité verdâtre, mais sans hépatisation du tissu pulmonaire. Au niveau du lobe supérieur, la coupe présente un aspect congestif donnant au tissu pulmonaire une coloration noirâtre de splénisation. Ça et là se trouvent disséminés des foyers grisâtres de la grosseur d'un petit pois, et d'aspect gangréneux.

Le poumon droit a été confié intact à notre collègue et ami Guillemot qui nous a remis la note suivante :

« Le lobe supérieur a conservé sa coloration ardoisée normale, surtout au niveau du sommet. Sur la face externe de ce lobe, se voient deux grandes plaques ecchymotiques à bords déchiquetés dont le centre est occupé par des nodules gangréneux de coloration jaune verdâtre. La plèvre est dépolie au niveau de ces plaques. Plus bas, sur la languette de ce lobe supérieur, se trouvent deux autres foyers de gangrène. Ça et là, la surface du poumon est soulevée par des nodules plus profonds, qui lui donnent un aspect bosselé. Deux plaques de gangrène dans la scissure interlobaire.

« Le lobe moyen est d'une coloration rouge sombre, due à une suffusion sanguine sous-pleurale presque généralisée : à l'œil nu, on note environ sept foyers gangréneux dont deux gros comme des noisettes font saillie à la surface de la plèvre.

« Le lobe inférieur est parsemé de très nombreux nodules : la plèvre, tapissée de fausses membranes, est constellée de taches hémorragiques.

« Au toucher, on constate dans la profondeur l'existence de nombreuses nodosités de volume variable.

« A la coupe, les foyers les moins avancés montrent deux zones ; l'une, puriforme, jaunâtre au centre ; l'autre fortement hémorragique à la périphérie. Les autres foyers présentent une cavité centrale remplie d'un liquide chocolat d'odeur infecte ; elle est bordée d'une collerette jaunâtre, festonnée, saillante sur la surface de la coupe. Enfin, dans les foyers les plus âgés, on trouve une véritable cavernule remplie de liquide gangréneux.

« Ces divers foyers de gangrène pulmonaire sont séparés les uns des autres par le tissu pulmonaire, non hépatisé, mais gorgé de sang et laissant ruisseler une sérosité extrêmement abondante. »

La rate est énorme, pesant 250 grammes, d'aspect nettement infectieux, de coloration lie de vin.

Le foie est gros, de consistance assez ferme, de coloration jaunâtre, analogue à un foie graisseux. La lobulation est encore très nette à la coupe. Poids 2,200 grammes. Pas de calculs dans la vésicule, Rien aux canaux biliaires,

Les veines présentent des altérations de la substance corticale. Ils sont noirâtres, et l'on distingue de petits foyers d'apoplexie au niveau des glomérales. On trouve dans le bassin des foyers apoplectiques très nets. On en trouvait également le long de l'uretère et jusque dans la vessie. Le rein droit est plus congestionné que le rein gauche.

Les capsules surrénales ne présentent aucune altération macroscopique.

Dans l'estomac et l'intestin on trouve de nombreuses hémorragies sous-muqueuses.

Crâne et cerveau. — Lorsqu'on enlève l'encéphale, on voit au niveau de la face inférieure du lobe droit du cervelet, et au niveau du lobe sphénoïdal du cerveau à droite, des ecchymoses noirâtres, teintées de jaune par la bile, et que l'on retrouve sur la dure-mère à ce niveau. La dure-mère étant décollée, le rocher paraît malade ; il présente une coloration légèrement brunâtre ; le rocher droit est enlevé, scié en deux suivant son grand axe ; on trouve alors la caisse, dont les parois sont profondément altérées, remplies de pus jaunâtre, concrété et répandant une odeur infecte. Le tympan n'est pas perforé. Les cellules mastoïdiennes sont remplies d'un pus fétide. Le tissu cérébral est sain. Les sinus de la dure-mère et le golfe de la jugulaire ne présentent pas d'altérations.

En résumé l'autopsie devait faire conclure à l'existence d'infarctus pulmonaires gangréneux, dont il était permis de rapporter l'origine à une otite moyenne purulente avec mastoïdite, dont l'existence n'avait pu être soupçonnée pendant la vie, et qui n'avait pas donné lieu à des lésions infectieuses de voisinage.

EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE

I. — Pus mastoïdien, recueilli aseptiquement à l'autopsie.

A. — *Colorations* :

a) *Violet de gentiane simple* : microorganismes en quantité colossale, appartenant aux formes les plus variées, et dont plusieurs se colorent fort mal. On par-

vient à discerner les formes suivantes par ordre de fréquence :

- 1) Un bacille mince allongé ;
- 2) Un petit bacille dont les extrémités sont plus fortement colorées que le centre ;
- 3) Un coccus isolé ou en petit amas ;
- 4) Un bacille incurvé ;
- 5) Des bacilles rectilignes de longueur variée ;
- 6) Un gros bacille trapu très rare.

b) *Gram* : la plupart des formes sont décolorées, sauf un bacille fin, granuleux, allongé, et quelques formes en coccus.

B. — *Cultures* :

a) Sur les tubes de gélose ordinaire inclinée, deux espèces seulement ont poussé :

- 1) Le *staphylococcus albus* ;
- 2) Le *proteus vulgaris*.

b) Dans les tubes de gélose sucrée en profondeur, il a poussé des espèces anaérobies strictes extrêmement nombreuses, dont la plupart ont été isolées. Ce sont :

- 1) Le *bacillus radiiformis* (Rist et Guillemot) ;
- 2) Le *bacillus ramosus* (Veillon et Zuber) ;
- 3) Le *bacillus thetoïdes* (Rist et Guillemot) ;
- 4) Le *spirillum nigrum* (Rist) ;
- 5) Le *bacillus perfringens* (Veillon et Zuber) ;
- 6) Un bacille droit, allongé, perdant le Gram ;
- 7) Un bacille mobile, perdant le Gram ;
- 8) Un bacille droit, perdant le Gram et donnant des colonies déchiquetées ;

9) Un petit filament très mince, perdant le Gram et donnant des colonies nébuleuses ;

10) Un gros coccus gardant le Gram.

Quelques-uns seulement de ces microbes ont pu être étudiés en détail. On trouvera plus loin leur description.

II. — *Foyers de gangrène pulmonaire.* — L'étude en a été faite par notre collègue et ami Guillemot, qui nous a remis la note suivante :

« Les cultures en gélose inclinée ordinaire sont demeurées stériles.

« Les cultures en gélose sucrée en profondeur ont permis d'isoler les espèces strictement anaérobies suivantes :

1) Le *bacillus radiiformis* ;

2) Le *bacillus ramosus* ;

3) Le *bacillus thétoides* ;

4) Un gros coccus gardant le Gram ;

5) Un bacille droit perdant le Gram et donnant des colonies déchiquetées ;

6) Un petit bacille fin à extrémités effilées, décoloré par la méthode de Gram.

7) Un bacille droit, allongé perdant le Gram.

III. — *Sang de la veine médiane céphalique* (1) pris 12 heures avant la mort avec une seringue de Strauss stérilisée pendant 20 minutes à l'autoclave à 120° ; la peau avait été aseptisée suivant la méthode ordinaire (savon, éther, alcool, sublimé, alcool, éther).

(1) Examen pratiqué par MM. J. Hallé et Guillemot.

Les colorations ne permettent de voir aucune forme bactérienne.

Les cultures sur agar ordinaire incliné et sur milieu de Wertheim sont restées stériles.

Cultures anaérobies; sur quatre tubes d'agar sucré en profondeur, deux tubes seulement ont cultivé, donnant, le premier, deux et, le second, une colonie d'un organisme strictement anaérobie, identique au bacille rencontré le plus fréquemment dans les cultures du pus mastoïdien et de la gangrène pulmonaire, le *bacillus radiiformis*.

Dans ce cas, comme dans le précédent, les infarctus pulmonaires avaient le caractère gangréneux. Le fait que les deux espèces aérobies isolées dans le pus de la mastoïdite n'ont pas été retrouvées dans les foyers pulmonaires, semble prouver qu'elles étaient dues à une infection accidentelle peut-être d'origine cadavérique.

Le nombre colossal d'espèces anaérobies isolées ne permet pas de déterminer exactement quels microbes sont les agents responsables de l'infection. Comme on le verra plus loin, plusieurs des anaérobies de ce cas sont nettement pathogènes pour l'animal. On conçoit, à la lecture de cette observation, de quelles difficultés est entourée l'étude de ce genre de suppurations. Malgré les perfectionnements apportés par Veillon à la technique de Liborius, il est matériellement presque impossible de poursuivre complètement une investigation qui porte sur plus de dix espèces anaérobies.

Un enseignement intéressant découle de cette obser-

vation. On a vu, au résumé de l'autopsie, que le tympan de l'oreille malade n'était pas perforé. L'infection n'était donc pas due à une otorrhée chronique, mais à une otite aiguë. Il en résulte que certaines otites aiguës peuvent être dues exclusivement à des microorganismes anaérobies. Nous avons eu ainsi la confirmation d'un fait que nous soupçonnions déjà devoir exister. Il est en effet — mais c'est une rareté — des observations d'otite moyenne aiguë fétide d'emblée. Un de nos amis, le Dr P... en a présenté un cas très net, dont l'examen bactériologique n'a pu être fait malheureusement. On voit donc combien l'étiologie des otites moyennes aiguës est variable, et quels arguments l'on peut opposer à la doctrine de la spécificité des otites, que les premiers auteurs qui se sont occupés de la question, attribuaient à deux ou trois espèces microbiennes déterminées, causant autant de formes cliniques spéciales.

OBSERVATION XII

Otorrhée gauche ancienne. — Mastoïdite gauche. — Trépanation. — Phlegmon diffus gazeux de la région cervico-dorsale. — Thrombophlébite du sinus latéral gauche. — Gangrène pulmonaire en foyers disséminés et circonscrits. — Mort.

Alphonse B..., âgé de 12 ans, entré le 21 décembre 1896, à la salle Molland, lit n° 9, dans le service de M. le Dr Brun, à l'hôpital des Enfants-Malades.

L'enfant avait depuis neuf ans, un écoulement de l'oreille gauche. Le 16 décembre 1896, il s'est plaint d'une douleur vive

au niveau de la région mastoïdienne gauche. Il a vomi plusieurs fois, et a eu de la fièvre.

Le lendemain de son entrée on note les symptômes suivants : la mastoïde est extrêmement douloureuse à la pression ; la tuméfaction douloureuse descend jusqu'à 3 ou 4 centimètres au-dessous de la pointe de l'apophyse. Pas de rougeur marquée de la peau. Le conduit auditif externe contient une petite quantité de pus fétide. Les mouvements du cou sont très douloureux. La température, le matin, est de 40°,6. Le pouls bat 120 pulsations à la minute ; il est régulier.

Le malade n'a pas vomi depuis la veille ; il a été à la selle pendant la nuit. Pas d'hébétude marquée. Du côté de l'oreille malade, il faut parler très haut pour se faire entendre. L'examen du fond de l'œil décèle à gauche une légère stase, se manifestant par un bord diffus de la papille, et par un peu de dilatation des veines. Rien dans les poumons.

Opération pratiquée par M. le Dr Brun, le 22 décembre. Incision le long du sillon rétro-auriculaire ; incision transversale de 2 à 3 centimètres. Ouverture large de la mastoïde, dont la paroi externe est très épaisse, mais non indurée. Le sinus est mis à nu ; mais sa paroi paraît souple, et il n'est pas ouvert. Jusqu'à l'ouverture de l'antre, on ne trouve pas de pus ; la cavité de l'antre n'est ouverte qu'après avoir évidé à une profondeur de 1 centimètre au moins : elle est assez grande et remplie d'un pus fétide. Un stylet introduit dans l'antre et dirigé en bas et en dedans, pénètre à une grande profondeur, évidemment dans les tissus du cou, au delà de la face interne de la mastoïde. La caisse est ouverte, en faisant sauter le pont osseux qui la sépare de l'antre. Une mèche de gaze est passée dans le conduit et amenée au dehors par la plaie. Les pinces à forcipressure sont laissées en place, dans le pansement. Temp. le soir 38°.

23 déc. — Le pansement est très fétide ; on enlève les pinces. En retirant la gaze qui tamponnait la plaie, il s'échappe un flot de sang veineux. Compression avec de la gaze iodoformée. Temp. m. 38°,2, s. 39°.

24 *déc.* — Léger gonflement de la partie postérieure gauche du cou, et du dos le long du bord interne de l'omoplate du même côté. Douleur vive exagérée à la pression dans toute la région tuméfiée. Temp. m. 39°,4, s. 40°,4.

25 *déc.* — La zone douloureuse s'est étendue jusqu'à la région lombaire, en restant toujours limitée au côté gauche de la colonne vertébrale. La tuméfaction forme une saillie plus notable. Le soir, cet œdème s'est encore plus accentué et garde l'empreinte des doigts. Deux ponctions exploratrices ne ramènent qu'une sérosité jaunâtre, fétide. Temp. m. 40°, s. 40°,4.

26 *déc.* — La partie inférieure du cou n'est plus douloureuse. L'œdème a gagné le bord inférieur de l'omoplate. A ce niveau, la peau est soulevée par l'infiltration du tissu cellulaire sous-cutané, mais elle ne garde pas l'empreinte des doigts. Dans toute l'étendue du dos, au contraire, la peau soulevée par l'œdème est elle-même infiltrée; elle garde l'empreinte des doigts et des plis des vêtements. En certains points on perçoit une vague sensation de fluctuation. Adénopathie axillaire gauche. La peau infiltrée a une couleur pâle. L'enfant se plaint d'une douleur thoracique extrêmement vive, exagérée dans les inspirations profondes. L'auscultation ne révèle aucun symptôme pulmonaire ou pleural.

Le soir, la peau est soulevée, au niveau du bord axillaire de l'omoplate, par une tuméfaction atteignant presque le volume du poing. Pas d'œdème des jambes. Pâleur de la face. Affaiblissement et accélération des battements du cœur.

On pratique deux grandes incisions de 4 à 5 centimètres, l'une à la partie inférieure du bord axillaire de l'omoplate, l'autre à la partie inférieure de la tuméfaction, au niveau de la région lombaire. La première incision ne donne que de la sérosité fétide, et permet de voir le tissu cellulaire œdématié. La deuxième donne un liquide séro-purulent horriblement fétide; à travers l'incision, on voit des tissus sphacelés, lardacés, de couleur verdâtre. Temp. m. 39°,2, s. 39°,6.

27 *déc.* — Les douleurs sont moins vives. L'œdème inflam-

matoire a gagné la région supérieure de la cuisse gauche. Crépitation gazeuse à la partie supérieure du dos. Les deux incisions précédentes sont agrandies au thermo-cautère, sous chloroforme et l'on en pratique cinq nouvelles. Une heure après, grand frisson d'un quart d'heure. L'état général s'est considérablement affaïssé depuis trois jours. La langue est sèche, le pouls filiforme. Incontinence d'urine. Temp. m. 38°,5, s. 37°,8.

28 déc. — Le matin, nouveau frisson, un peu moins violent que celui de la veille. Le pansement et le lit sont imbibés de sérosité. Les plaies dégagent une odeur fétide, pénétrante, qui se perçoit à plusieurs mètres de distance. L'haleine est fétide. Le pansement renouvelé deux fois par jour est fait avec des compresses imbibées d'eau oxygénée. Temp. m. 37°,6, s. 37°,2.

29 déc. — Respiration baletante et suspirieuse. Râle trachéal. Regard terne. Mort à 9 heures du matin. Temp. terminale 40°,1.

Autopsie pratiquée 24 heures après la mort.

Toutes les parties malades, la peau, les muscles du dos, sont en état de putréfaction. Au contraire, les muscles antérieurs du thorax et de l'abdomen sont d'apparence normale. Une fusée purulente, fétide, partie de la région cervicale gauche a pénétré derrière le sternum, dans le médiastin antérieur jusqu'au diaphragme.

Le péricarde et le cœur sont sains.

Adhérences pleurales lâches sur toute la surface des deux poumons. Dans le cul-de-sac pleural postéro-inférieur droit, on trouve 40 à 50 grammes d'un liquide fétide, séro-purulent, contenu dans trois ou quatre loges fibrineuses pariétales ou diaphragmatiques. A la surface de chaque poumon, on trouve deux zones de gangrène pulmonaire, où le tissu d'un noir verdâtre, entouré d'une zone rouge est ramolli. A la coupe, on trouve, au niveau de chacune de ces zones gangréneuses une petite cavité remplie d'un liquide noirâtre, nauséabond.

Les méninges sont saines, ainsi que l'encéphale.

La partie inférieure du sinus latéral gauche est oblitérée par un caillot, sur une longueur de 5 à 6 centimètres. La coagulation

se prolonge dans la partie supérieure de la veine jugulaire interne du même côté. L'extrémité du sinus est remplie par une matière semi-liquide, noirâtre, ayant l'odeur de la gangrène; elle communique largement avec l'excavation pratiquée dans la mastoïde.

EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE (Résumé).

I. — *Pus mastoïdien*, aspiré au cours de la trépanation.

A. — *Colorations*.

a) *Violet de gentiane en solution hydro-alcoolique*: nombreux globules rouges; quelques leucocytes. Les formes bactériennes sont relativement rares. On reconnaît par ordre de fréquence:

1) De nombreux diplobacilles de différentes longueurs.

2) Quelques bacilles longs et très fins.

b) *Gram*: le bacille fin reste seul coloré.

B. — *Cultures*:

Les ensemencements sur gélose inclinée ordinaire sont demeurés stériles.

Dans les tubes de gélose sucrée en profondeur, nous avons obtenu deux sortes de microbes strictement anaérobies:

Un bacille droit, moyen, se décolorant par le Gram.

Le *bacillus ramosus*, (Veillon et Zuber) qui donne en culture des formes filamenteuses et qui garde partiellement le Gram (voir sa description au chapitre VI).

II. — *Phlegmon putride du dos*, sérosité louche recueillie au moment de l'incision.

A. — *Colorations*: on reconnaît les mêmes formes que

dans le pus mastoïdien, plus un diplocoque gardant le Gram. Les formes bactériennes sont extrêmement abondantes; on trouve des globules de pus en très petite quantité.

B. — *Cultures* :

Les ensemencements sur gélose inclinée ordinaire ont donné du streptocoque.

Dans les tubes de gélose sucrée en profondeur, on retrouve les deux espèces anaérobies strictes constatées dans le pus mastoïdien.

III. — *Foyers de gangrène pulmonaire*, examinés 24 heures après la mort.

A. — *Colorations*: on retrouve un bacille fin prenant le Gram et un bacille plus gros et plus court, qui le perd. Quelques cocci gardant le Gram.

B. — *Cultures*: le streptocoque aérobie, les deux bactéries anaérobies.

IV. — *Sang du cœur*, pris 3 heures après la mort.

A. — *Colorations*: quelques diplocoques gardant le Gram.

B. — *Cultures*: le streptocoque; les deux anaérobies.

Nous avons donc eu affaire dans ce cas à une mastoïdite aiguë fétide, consécutive à une otorrhée ancienne, également fétide. Cette mastoïdite a produit, en premier lieu, une infection de voisinage, le phlegmon putride du dos. Ce phlegmon, par sa marche suraiguë, par son caractère gazeux et fétide, par le sphacèle rapide des tissus qui accompagnait son extension, doit-être

considéré comme un processus gangréneux d'une nature toute spéciale. En second lieu, la mastoïdite a produit une thrombo-phlébite du sinus latéral, et secondairement, des embolies septiques qui ont créé dans le poumon des foyers disséminés et circonscrits de gangrène.

Le pus mastoïdien ne contenait que deux microorganismes, tous deux anaérobies. Ces deux microorganismes étaient contenus aussi dans le phlegmon putride dans les foyers de gangrène pulmonaire et dans le sang du cœur. Le streptocoque qui n'existait pas dans le pus mastoïdien, mais que l'on trouvait en petite quantité dans les autres liquides examinés s'est probablement introduit secondairement, à la faveur de l'ouverture mastoïdienne. Son rôle dans la pathogénie des accidents peut-être discuté. Mais il nous paraît que le rôle principal dans cette infection a été joué par les deux bactéries anaérobies.

OBSERVATION XIII.

Otorrhée fétide gauche. — Mastoïdite aiguë. — Trépanation. — Thrombo-phlébite sinusienne. — Abscess du lobe sphénoïdal gauche. — Foyers circonscrits et disséminés de gangrène pulmonaire. — Mort.

(Obs. clinique et bactériologique publiée par VEILLON et ZUBER, in *Arch. de méd. Expér.*, juillet 1898).

La nommée X..., âgée de 11 ans, entre le 19 mai 1895, à la salle Bouvier, hôpital des Enfants-Malades, dans le service de M. le Dr de Saint-Germain.

Bien portante jusqu'à l'âge de 6 ans, la malade a présenté à

cette époque un écoulement d'oreille du côté gauche, qui a persisté depuis. Depuis 15 jours, elle n'entend plus de ce côté, et elle éprouve des douleurs dans l'oreille. Depuis une semaine, elle présente derrière l'oreille une tuméfaction pour laquelle on a prescrit des badigeonnages de teinture d'iode. Elle souffre dans tout le côté gauche de la tête.

A son entrée, c'est une fillette forte, bien constituée. Elle présente un état de prostration très marqué avec hyperesthésie généralisée. Température 39°,5. Le pouls est rapide, irrégulier, cérébral. Elle n'a ni convulsions, ni paralysie oculaire. Mais il existe un œdème de la paupière supérieure gauche.

On constate un écoulement fétide par le conduit auditif externe gauche, et derrière l'oreille, une vaste collection fluctuante qui est immédiatement incisée. Il s'échappe un flot de pus fétide. Le soir, le chirurgien de garde fait la trépanation de l'apophyse mastoïde, où il découvre une collection purulente fétide. Une hémorragie est arrêtée par un tamponnement à la gase iodoformée. La température est à 40°.

Le lendemain, 20 mai, même état. Pas de convulsions. Température 39°,5.

Mort dans la nuit du 20 au 21.

Autopsie. — Pratiquée le 22 mai.

A l'ouverture du thorax on trouve les poumons indemnes de toute tuberculose. Dans le poumon droit, on découvre à la surface plusieurs foyers gangréneux noirâtres, saillants sous la plèvre. Un foyer analogue existe dans la profondeur du parenchyme.

La base du poumon gauche est congestionnée. La plèvre est dépolie, couverte de quelques fausses membranes. Sa cavité contient quelques grammes de sérosité louche. Au niveau du bord inférieur de ce poumon, il existe deux foyers gangréneux, du volume d'une grosse noisette, saillants à la surface de la plèvre et formés d'un tissu ramolli, noirâtre. En les ouvrant, on trouve une cavité remplie par un putrilage brunâtre, fétide. Après évacua-

tion du contenu, on se trouve en présence d'une caverne qui se continue avec le tissu pulmonaire, friable, jaunâtre. Ce putrilage, auquel des gaz se trouvent mêlés, est difficile à aspirer.

La cavité péricardique contient un peu de sérosité. La séreuse elle-même est normale. Le cœur est sain; rien à l'endocarde, non plus qu'aux valvules.

Le foie est gros, mou, d'aspect infectieux.

La rate, grosse, diffluite, pèse 130 grammes.

Les reins sont normaux en apparence.

En ouvrant le crâne, on remarque la présence, à gauche, d'une otite moyenne suppurée. L'infection s'est propagée au rocher et aux sinus latéral, pétreux superficiel, caverneux et jugulaire, dans lesquels on trouve des caillots purulents.

Il n'y a pas de méningite diffuse, mais une adhérence du lobe sphénoïdal gauche au niveau du sinus pétreux superficiel. Dans cette région, la surface extérieure du cerveau est noirâtre. Audessous de cette surface, on trouve, dans le lobe sphénoïdal, un vaste abcès gangréneux, du volume d'une demi-mandarine, ne communiquant avec la lésion du rocher que par un seul point. Cet abcès donne au palper une sensation molle et fluctuante. A l'incision, on y trouve une cavité mal limitée, remplie par un putrilage noirâtre, horriblement fétide. Dans le reste du cerveau et dans le cervelet, on ne trouve rien d'apparent à la coupe.

EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE

« Le pus de la mastoïdite a été recueilli aseptiquement du vivant de la malade, au moment de l'opération. A l'autopsie, on a recueilli aussi purement que possible, le liquide de l'abcès sphénoïdal et des foyers pulmonaires, le sang du cœur droit.

« Le pus mastoïdien, examiné au microscope, est rempli de microbes qui-peuvent se ramener morphologiquement à deux formes :

« 1° Un petit bacille, quelquefois deux à deux ou en chaînettes, se colorant par la méthode de Gram ;

« 2° Un bacille plus grand se colorant par le violet de gentiane ou par le liquide de Ziehl, mais se décolorant par la méthode de Gram. Ce dernier bacille est moins abondant que l'autre.

« Les tubes de culture aérobie ensemencés avec le pus sont demeurés stériles.

« Les tubes de culture anaérobie sont peuplés de nombreuses colonies et on isole deux bacilles différents.

« Le pus de l'abcès du cerveau et le contenu des foyers pulmonaires, recueillis à l'autopsie, sont examinés au microscope et ensemencés. L'examen bactériologique montre de nombreux bacilles analogues aux précédents, et en plus, bien que plus rares, des bacilles plus gros et quelques microcoques.

« Les cultures permettent d'isoler les deux bacilles anaérobies précédents, de rares coli-bacilles, et, en très petite quantité, un streptocoque anaérobie.

« Le sang du cœur donne en cultures les deux bacilles anaérobies, quelques rares coli-bacilles et streptocoques.

« En résumé, une petite fille, atteinte d'otorrhée chronique a fait de l'infection de ses cellules mastoïdiennes, et, consécutivement, un abcès dans le lobe sphénoïdal. L'infection de nature gangréneuse s'est transmise à un sinus, et de là sont parties des embolies d'une nature spéciale, qui, en s'arrêtant dans le poumon, ont provoqué des foyers de gangrène.

« Le pus de la mastoïdite, au moment même de l'ou-

verture chirurgicale, du vivant de la malade, contient exclusivement deux organismes anaérobies. Ces organismes se retrouvent dans le pus intra-crânien, dans les foyers pulmonaires, où ils sont en abondance. Associés à ces anaérobies, on trouve, il est vrai, un coli-bacille et un streptocoque ; mais ces deux derniers microbes ne sont qu'en petite quantité relativement et n'existent que dans les produits recueillis à l'autopsie ; ils peuvent donc avoir pénétré soit après la trépanation, soit après la mort (1). »

Les deux organismes anaérobies ont été étudiés par Veillon et Zuber sous les noms de :

- 1) *Bacillus ramosus* ;
- 2) *Bacillus serpens*.

On en trouvera la description complète à la fin de ce travail.

Dans le cas suivant, il s'agit d'une septicémie aiguë, dont l'origine otique, méconnue pendant la vie n'a été trouvée qu'à l'autopsie.

OBSERVATION XIV.

Otorrhée chronique. — Septicémie aiguë. — Ostéoarthritis purulentes fétides multiples. — Pleurésie purulente. — Phlébite iliaque. — Mort.

(Obs. clinique inédite due à l'obligeance de nos amis Veillon et Zuber ; les résultats de l'examen bactériologique ont été publiés par VEILLON et ZUBER à la *Société de Biologie*, en mars 1897).

Auguste P..., 6 ans et demi, entré le 13 avril 1894, salle

(1) Nous avons reproduit textuellement cet examen bactériologique d'après le mémoire de Veillon et Zuber.

Giraldès, le n° 17, dans le service de M. le Dr de Saint-Germain, à l'hôpital des Enfants-Malades.

Les antécédents pathologiques de l'enfant sont inconnues. On sait seulement que depuis une époque indéterminée, il avait une otorrhée fétide à droite.

A son entrée, le malade est dans un état typhique; sa langue est sèche, fuligineuse. Ventre souple et non douloureux. Selles jaunâtres, fétides. Vomissement la veille. Cris, agitation, tremblement des doigts. Pas de convulsions, ni de délire. L'enfant est conscient. Pupilles normales. Pouls petit, fréquent, régulier. Raideur de la nuque. L'oreille gauche paraît saine. Otorrhée fétide à droite.

La cuisse gauche est fléchie sur le bassin, en rotation en dedans. L'extension du membre est douloureuse. Rien d'anormal dans la fosse iliaque ni à la colonne vertébrale. On trouve un empatement douloureux occupant la moitié supérieure de la cuisse, en avant. Fluctuation au niveau du triangle de Scarpa.

Le 14, incision à la partie antérieure de la cuisse, au point le plus fluctuant. Sitôt l'aponévrose superficielle incisée, il s'écoule un pus chocolat, très fétide, d'odeur fécaloïde. Le doigt introduit dans la plaie se rend compte que les muscles superficiels et profonds sont décollés et infiltrés, ce qui permet de remonter jusqu'à l'arcade de Fallope, et de descendre presque jusqu'au niveau du genou. Toutefois le fémur ne paraît pas dénudé. Le chloroforme permet d'allonger la cuisse et d'explorer l'articulation qui paraît saine. Lavage, drainage, pansement humide au sublimé.

Diarrhée jaunâtre, fétide.

Les jours suivants, l'état général paraît meilleur, bien que la température persiste à osciller autour de 39°. La diarrhée cède sous l'influence du salicylate de bismuth.

Le 19, on découvre un abcès du conduit auditif gauche.

Le 20, l'état général s'aggrave de nouveau. Œdème des bourses, diarrhée profuse.

Le 22, agrandissement de l'incision; par en haut. On ne

trouve pas de trajet conduisant dans la cavité abdominale. On atteint avec le doigt la face externe du grand trochanter, qui ne paraît pas dénudé. Mais l'exploration de l'articulation coxofémorale révèle des lésions profondes; les mouvements de rotation déterminent de la crépitation; la tête fémorale, qui paraît mobile et détachée du col, est en subluxation postérieure. A la palpation de la fosse iliaque interne, on a la sensation d'un épaississement de l'arrière-fond de la cavité cotyloïde.

Le 23, apparaît un gonflement inflammatoire du coude gauche.

Le 24, l'enfant meurt, profondément infecté, avec de l'œdème de tout le membre inférieur gauche et du scrotum.

Autopsie. — Praticquée 28 heures après la mort.

Le ventre est ballonné, verdâtre. Le cadavre répand une odeur extrêmement fétide.

Au devant de la partie droite du thorax et le long du sterno-cléido-mastoïdien droit, on découvre une tumeur rénitente qui avait passé inaperçue au dernier pansement fait 24 heures avant la mort. En enlevant les parties molles préthoraciques, on voit qu'il s'agit d'un vaste abcès siégeant sous le grand pectoral, et descendant jusqu'à la 4^e côte. En haut, cet abcès envoie, dans la gaine du sterno-cléido-mastoïdien une fusée qui n'atteint pas l'apophyse mastoïde. Le pus de cet abcès est bien lié, verdâtre; il laisse des grumeaux filamenteux sur la paroi de la cavité. Son odeur est assez fétide. En enlevant le plastron thoracique, on constate que le point de départ de l'abcès siège au niveau de l'articulation sterno-claviculaire droite. Cette articulation est ouverte; on trouve l'extrémité interne de la clavicule noirâtre et nécrosée; le cartilage est détruit.

A l'ouverture du thorax, on trouve à la partie antérieure du lobe supérieur du poumon droit, derrière la paroi où siègeait l'abcès, une cavité pulmonaire, remplie de pus fétide et ne communiquant pas avec les bronches. Le poumon droit présente quelques adhérences en arrière; son parenchyme est simplement

congestionné et œdématisé, sans lésions de bronchopneumonie ou de tuberculose. La plèvre ne contient pas de liquide.

A gauche au contraire, toute la cavité pleurale est remplie par un épanchement de 2 à 3 litres, nettement purulent. Ce pus est verdâtre, plus fluide que celui de l'abcès ; sur la plèvre pariétale et viscérale, il n'y a qu'un dépôt peu épais. Le poumon est absolument ratatiné sur lui-même ; il adhère pourtant légèrement à la paroi, suivant une ligne qui est située au devant de la scissure interlobaire, en sorte que la cavité pleurale est divisée en deux étages. L'abcès thoracique ne communique pas avec la plèvre gauche. Les ganglions du médiastin sont sains.

La cavité péricardique ne contient pas de liquide ; mais on trouve quelques petites ecchymoses sous le péricarde pariétal et viscéral. Le cœur n'offre rien de remarquable.

A l'ouverture de la cavité abdominale, on ne trouve pas de péritonite. L'estomac et l'intestin sont normaux, sauf un certain degré de psorentérie des plaques de Peyer dans la région cœcale. Les ganglions mésentériques sont mous, blanchâtres, non hypertrophiés.

La rate est résistante; elle pèse 60 grammes.

Le foie, jaunâtre, marbré, pèse 820 grammes.

Les reins sont d'apparence normale ; chacun d'eux pèse environ 140 grammes.

Une fois la masse intestinale enlevée, on explore les vaisseaux du bassin. La veine iliaque externe gauche est obstruée par un caillot, qui est suppuré au niveau du promontoire. immédiatement au-dessous de la bifurcation de l'iliaque primitive.

En agrandissant par en haut l'incision faite dans l'abcès fémoral, on tombe sur deux petites cavités purulentes, au sein des tissus infiltrés. On pénètre ainsi dans l'articulation de la hanche par sa partie antérieure. La tête, décollée au niveau du cartilage de conjugaison, est entièrement nécrosée; le cartilage de sa surface a disparu. Le col fémoral est nécrosé. Les trochanters et la diaphyse sont indemnes. La cavité cotyloïde est entièrement dé-

pourvue de cartilage d'encroûtement. La ligne de jonction des trois os constitutifs de l'os coxal est disjointe dans ses parties ischio-pubienne et ischio-iliaque, de telle sorte que l'ischion est séparé des deux autres os, et que la cavité osseuse est ouverte vers le bassin. Le périoste est malade à ce niveau, mais la perte de substance est recouverte par les fibres du muscle obturateur interne, et par du tissu fibreux plus ou moins infiltré.

A l'ouverture du crâne, on trouve les sinus, les méninges et l'encéphale sains.

Otite moyenne droite ancienne. L'abcès du conduit auditif externe gauche qui avait été incisé est agrandi ; on constate qu'il avait son point de départ dans une arthrite temporo-maxillaire, avec destruction du cartilage condylien.

EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE

L'*examen bactériologique* n'a porté que sur le pus de l'ostéo-arthrite coxo-fémorale, recueilli pendant la vie, et, à l'autopsie, sur le sang du cœur, sur le sang de la phlébite iliaque, sur le pus de l'abcès de la paroi de la plèvre, et sur celui de la plèvre. Le pus de l'othorrhée, origine de l'infection, n'a pas été examiné.

Le pus de l'arthrite coxo-fémorale renfermait à l'état de pureté un petit cocco-bacille un peu plus long que le choléra des poules, dont les bouts arrondis, se colorent mieux que le centre ; ce microorganisme, disséminé dans le pus, extra-cellulaire, ne se met pas en chaînettes, mais forme quelquefois un diplobacille ; il est *strictement anaérobie* et existe dans le pus à l'exclusion de toute espèce aérobie.

On le retrouvait également à l'état de pureté dans l'abcès de la paroi thoracique. Dans le sang du cœur,

il se trouvait associé à un streptocoque, et dans le sang de la phlébite, à différents microbes non définis ; dans le pus de la plèvre, il était associé au seul pneumocoque.

Ce cocco-bacille qui est pathogène, ainsi qu'on le verra plus loin se trouvait donc isolé à l'état de pureté dans le pus pris pendant la vie ; il n'était associé que dans les liquides recueillis à l'autopsie. On peut admettre avec une très grande vraisemblance qu'il provenait de l'otite moyenne et que c'est la suppuration otique qui a été l'origine de cette septicémie anaérobie.

Dans le dernier cas qui nous reste à considérer, il n'y avait pas eu de septicémie. L'otite suppurée avait été compliquée d'un abcès cérébral. Ici encore le pus renfermait exclusivement des microorganismes anaérobies.

OBSERVATION XV

Otite moyenne gauche suppurée chronique. — Carie du rocher.
Abcès du lobe temporal gauche. — Mort.

(Obs. inédite due à l'obligeance de nos amis VEILLON et ZUBER).

Il s'agit d'une fillette de 10 ans, entrée à l'hôpital des Enfants-Malades dans un état comateux, ayant présenté des convulsions et de la raideur de la nuque, et morte subitement quatre jours après son entrée à l'hôpital. Elle présentait depuis une époque indéterminée une otorrhée fétide gauche. Nous ne possédons pas d'autres renseignements cliniques.

Autopsie. — A l'ouverture de la cavité thoracique, on trouve quelques adhérences à la face externe du poumon droit ; pas d'épanchement pleural. Pas de tuberculose apparente des poumons et des ganglions médiastinaux.

Quelques grammes de liquide dans la cavité péricardique ; ventricules vides, sauf un petit caillot fibrineux dans le ventricule droit.

A l'ouverture du crâne, après incision de la dure-mère, on trouve les veines et les sinus gorgés de sang. Au niveau du lobe temporal gauche, la substance grise reste en plusieurs points adhérente aux méninges. On découvre une poche purulente, de la grosseur d'une petite mandarine formée aux dépens du lobe temporal dans sa partie la plus inférieure. Hémisphère droit normal.

Sur la surface antéro-supérieure du rocher gauche, on remarque une surface noirâtre, d'aspect nécrosique, de 15 millimètres sur 7 à 8 millimètres, au-dessous de laquelle se trouve une cavité anfractueuse répondant à la caisse. Le sinus latéral et le sinus pétreux supérieur ne sont pas atteints de phlébite.

EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE

L'examen bactériologique n'a été pratiqué que pour le pus de l'abcès cérébral, recueilli aseptiquement à l'autopsie.

A. — Colorations :

a) *Violet de gentiane simple* : on trouve par ordre de fréquence :

1. Un long bacille fin, se colorant mal ;
2. Un gros coccus en diplocoque, quelquefois en tétrade, de dimensions assez irrégulières ;
3. Un petit bacille court et mince, en grain d'avoine, formant parfois des chaînettes.

b) *Gram* : on retrouve les formes 2 et 3. Le long bacille fin reste décoloré.

B. — *Cultures* :

a) Les tubes d'agar ordinaire incliné sont demeurés stériles.

b) Dans les tubes de gélose sucrée en profondeur, on a isolé les trois espèces observées dans le pus. Elles étaient strictement anaérobies. Toutefois on n'a pu étudier complètement en cultures pures que les formes 1 et 2. La forme 3 est morte rapidement dans les cultures.

On voit donc, d'après ce qui précède, que les organismes anaérobies peuvent produire les lésions les plus variées et les plus diversement localisées. Le point de départ otique leur fournit des voies d'accès dans tous les organes, et en particulier dans l'encéphale, par propagation, et dans le poumon, par infection sanguine. Quel que soit le domaine de l'économie où ils exercent leur action, ils produisent toujours des lésions dont le caractère fétide, gangréneux et putride permet à l'avance de faire soupçonner leur présence.

Ces faits jettent une lumière nouvelle sur la nature de certaines affections gangréneuses. « En effet, disent Veillon et Zuber, pour comprendre la pathogénie de la gangrène, il est nécessaire, croyons-nous, de distinguer nettement la nécrose de la gangrène véritable. La nécrose est la mortification d'un tissu se faisant à l'abri de l'infection bactérienne; les infarctus du poumon chez les cardiaques en sont des exemples fréquents. La gangrène vraie, telle qu'on la comprend aujourd'hui, in-

diquenon seulement la mortification des tissus, mais une transformation profonde de ces tissus, transformation vraisemblablement liée à une action microbienne. Tantôt les microbes agissent secondairement pour putréfier un tissu déjà nécrosé, par arrêt de la circulation par exemple; tantôt ce sont les microbes eux-mêmes, qui en se développant, nécrosent et putréfient du même coup la partie d'organe lésée ». Ce dernier processus, que Veillon et Zuber ont récemment mis en lumière, est aussi celui auquel il faut rattacher les infections gangréneuses que nous venons d'étudier.

La question qui se pose maintenant, est de savoir d'où proviennent ces organismes anaérobies capables de produire des lésions si spéciales. Nous avons essayé de démontrer que les suppurations de l'oreille en contiennent un grand nombre, et que d'un foyer otique, ils peuvent rayonner en divers points de l'organisme. Mais comment ces agents pathogènes parviennent-ils dans l'appareil auditif? Il nous paraît évident que leur origine doit être recherchée dans la cavité buccale, d'où ils pénètrent par voie salpingienne. La plupart des espèces que nous avons étudiées se retrouvent en effet dans la bouche, d'où elles se répandent dans tout le canal digestif et en particulier dans l'intestin. Les espèces anaréobies que Veillon et Zuber ont rencontré dans les appendicites, où elles jouent un rôle considérable, sont pour la plupart identiques à celles qui vivent normalement dans la bouche et que l'on retrouve dans le tartre dentaire, dans les abcès dentaires, etc. Il en est de même pour les microbes des otites. Par quel méca-

nisme, ces organismes qui mènent dans la cavité buccale une vie saprophyte inoffensive, acquièrent-ils soudain une virulence si excessive ? C'est là évidemment un problème fort obscur, mais qui ne se pose pas seulement à propos des anaérobies. Beaucoup de microorganismes pathogènes bien connus, le pneumocoque, le streptocoque, le staphylocoque, etc., peuvent se rencontrer dans la bouche à l'état de saprophytes, et n'acquièrent leur virulence que sous des influences encore mal connues. Nous rentrons donc ici dans un cas général.

Il nous reste maintenant à étudier de plus près quelques-unes des espèces que nous avons isolées.

CHAPITRE VI

DESCRIPTION DE QUELQUES ESPÈCES ANAÉROBIES EN CULTURE PURE

On comprendra sans peine qu'il ne nous ait pas été possible de faire l'étude complète de tous les microorganismes que nous avons rencontrés au cours de ces recherches. Leur nombre, leur extrême variété, les difficultés et les longueurs de la technique, nous ont obligé à borner nos investigations à quelques espèces qui nous ont semblé particulièrement fréquentes, ou spécialement intéressantes au point de vue biologique. Parmi ces espèces il en est que nous avons pu identifier avec des bactéries déjà rencontrées et décrites par Veillon et Zuber. Il en est d'autres que nous avons isolées pour la première fois. Suivant l'exemple de ces auteurs, nous leur avons donné des noms latins, rappelant un de leurs caractères morphologiques ou biologiques les plus frappants. Deux des espèces dont nous signalons ici pour la première fois l'existence ont été étudiées aussi par notre collègue et ami Guillemot, qui poursuit au laboratoire de M. le Pr Grancher, des recherches sur l'étiologie de la gangrène pulmonaire. Enfin nos amis Veillon et Zuber ont bien voulu

nous communiquer la description de deux espèces encore inédites, qu'ils ont trouvées dans le cas d'abcès encéphalique d'origine otique, relaté à l'observation XV. C'est par elles que nous commencerons notre énumération. Elles n'ont pas encore reçu de nom, et nous les désignerons simplement par des lettres.

Espèce A (Veillon et Zuber).

(Isolée dans le pus de l'abcès cérébral, observation XV).

C'est un microbe qui se présente dans les colonies sous formes de filaments irrégulièrement colorés; quelques-uns possèdent des renflements sphériques qui gardent fortement la couleur. Dans la gélose sucrée en profondeur, on voit se développer à l'étuve à 37°, au bout de 43 heures, des colonies arrondies, petites, transparentes, à bords ondulés, finement granuleuses, légèrement grisâtres. Le troisième jour, les bords de la colonie se hérissent de fins et courts filaments, et l'aspect est celui d'une boule formée de fines hachures feutrées. En surface sur agar sucré, dans le vide, après 2 ou 3 jours, apparaissent de petites colonies, qui, à un faible grossissement, forment des taches grisâtres, très transparentes et réfringentes, finement granuleuses. Elles sont plus bleutées que le pneumocoque, beaucoup moins opaques que le streptocoque.

Ce microorganisme ne pousse pas en gélatine sucrée en profondeur, à la température de 23°. Cultivé en bouillon sucré dans le vide, à la température de 37°,

il forme de fins flocons nuageux et transparents, sans troubler le milieu, et sans produire de gaz. Ces flocons tombent au fond du tube. La culture dégage une odeur fétide.

Une culture, inoculée sous la peau du ventre au cobaye et au lapin, ne donne que de petits abcès, sans tuer l'animal.

Espèce B (Veillon et Zuber).

(Isolée dans le pus de l'abcès cérébral, observation XV).

C'est un diplocoque plus gros que le *staphylococcus pyogenes aureus*, se mettant souvent en groupes de 4 ou de 6, tant dans le pus que dans les cultures. Il reste coloré par le Gram.

En gélose sucrée profonde, à la température de 37°, les colonies sont visibles à l'œil nu après 48 heures. A un faible grossissement (obj. 0), ce sont de petites boules régulières, granuleuses, d'un gris brunâtre assez foncé; leur forme est nettement lenticulaire; leurs bords sont lisses et très nets.

En surface, sur gélose sucrée, dans le vide, les colonies forment à l'œil nu une couche grisâtre, peu épaisse, transparente. A un faible grossissement, ce sont des taches gris brunâtre, à bords nets, granuleux. En gélatine sucrée en profondeur, à la température de 22°, on voit de petites colonies punctiformes, qui ne liquéfient pas le milieu.

En bouillon sucré, dans le vide, il se produit un

trouble uniforme, puis un dépôt épais au fond du tube et quelques bulles de gaz.

Inoculé sous la peau du ventre, ce microbe détermine chez le cobaye et chez le lapin un abcès au point d'inoculation, et la mort par intoxication, en 3 à 8 jours.

Espèce C (Veillon et Zuber).

(Ce microbe a été rencontré dans les divers produits pathologiques qui font le sujet de l'Observation XIV; sa description a été publiée par Veillon et Zuber à la Société de Biologie en mars 1894; nous n'avons pas rencontré dans nos cas d'espèce qu'on put identifier avec lui).

Dans le pus il se présente sous la forme d'un petit cocco-bacille un peu plus long que le choléra des poules, à bouts arrondis, qui se colorent mieux que le centre. Il se met parfois en diplo-bacille, mais ne forme pas de chainettes.

Cultivé en gélose sucrée en profondeur, il se présente sous des formes analogues à celles qui ont été notées dans le pus; mais il en possède d'autres plus longues, parfois filamenteuses; beaucoup d'éléments sont pourvus de renflements cylindriques, fusiformes ou sphériques. Ils sont immobiles. Ils se colorent très mal, et seulement par places; les renflements — qui ne prennent presque pas la couleur — semblent pouvoir se détacher, car on en observe qui sont libres. Les colonies, dans la profondeur de la gélose, apparaissent au bout de 48 heures d'étuve à 37°, sous forme de petits points très fins. Ces colonies, examinées à un faible grossissement (obj. 0) sont très petites, transparentes,

finement granuleuses et légèrement grisâtres; elles sont arrondies, à bords ondulés.

Sur gélosé sucrée en surface, dans le vide, de petits points fins deviennent visibles au bout de 48 heures. A un faible grossissement, ce sont de petites taches gris clair à bords nuageux. Plus tard on a des taches visibles à l'œil nu : ce sont de petites gouttelettes marbrées, humides, transparentes, ressemblant à des colonies jeunes de gonocoque. A un faible grossissement, on voit des taches grises composées d'un centre gris brun, et d'une zone périphérique beaucoup plus claire, d'un jaune grisâtre. Les bords sont fins et nuageux. Le tout est très finement granuleux.

Les cultures en bouillon sucré dans le vide ne troublent pas le liquide. Le développement est lent : il se forme de petits nuages floconneux qui, peu à peu, tombent au fond.

Les cultures développent une odeur fétide, rappelant celle du vieux choux-fleur. Le microbe est tué en une heure à la température de 53°. Il ne pousse pas à la température ordinaire.

Les cultures en agar sucré ont été inoculées à différents animaux.

Introduites sous la peau de la cuisse d'une souris, elles ont produit en 48 heures un abcès fétide volumineux au point d'inoculation, mais sans tuer l'animal. Il en est de même pour le cobaye. En revanche un lapin, inoculé sous la peau du ventre, mourut 7 jours après l'inoculation après avoir eu un abcès volumineux fétide. Le bacille fut trouvé en culture pure, dans les

abcès des trois animaux et dans le sang du cœur du lapin.

Ce microorganisme est peut-être identique au *bacillus funduliformis*, anaérobie strict trouvé par J. Hallé dans le pus des bartholinites, dans l'exsudat des rétentions placentaires et dans le vagin à l'état sain (1).

Bacillus serpens (Veillon et Zuber)

C'est un bâtonnet assez gros, à extrémités arrondies, régulier. Dans les cultures, les éléments sont souvent unis deux par deux, en forme de pseudo-filaments. Il est légèrement mobile et progresse surtout par ondulation.

Il se développe entre 20° et 37°.

Dans la gélatine sucrée en profondeur, on voit apparaître au bout de 4 à 5 jours de petites colonies rondes, grisâtres, qui liquéfient lentement le milieu. La partie liquéfiée reste limpide, et les colonies forment de petits nuages en suspension dans le liquide. En piqûre, il se forme un enduit grisâtre, le long du trait d'inoculation. La liquéfaction se fait tout le long de la piqûre; la gélatine liquéfiée reste claire, et les flocons tombent peu à peu au fond, en formant un dépôt blanc.

Dans la gélose à 37°, au bout de 24 heures, on voit déjà de petites colonies. Examinées à un faible gros-

(1) J. HALLÉ. Recherches sur la bactériologie du canal génital de la femme, p. 28. Paris, Steinheil, 1898.

sissement, elles apparaissent comme de petites masses rondes, claires, grisâtres, granuleuses, hérissées de hachures; on voit quelquefois un bouquet de filaments à un des pôles. Plus tard, la colonie, en grossissant, devient plus opaque; les bords en sont plus nets.

Sur la surface de la gélose ensemencée apparaissent de petits points à peine visibles, au bout de 48 heures; plus tard les colonies forment de petites masses nuageuses, très transparentes. Quand l'ensemencement est abondant, il se forme une couche très mince, très discrète, rappelant l'aspect que donne la culture du pneumocoque. Les colonies en surface sur gélose, examinées au microscope, apparaissent comme de petites masses nuageuses, transparentes, grisâtres.

Le bouillon ensemencé se trouble rapidement, puis s'éclaircit lentement en laissant déposer un enduit blanchâtre au fond du tube. Les cultures répandent une odeur fétide. Le dégagement gazeux n'est pas suffisant pour fendre la gélose. Ce bacille est vivace et il suffit de le réensemencer au bout de 20 à 25 jours, il se colore par les couleurs d'aniline ordinaire, mais ne reste pas coloré par la méthode de Gram. On ne peut le cultiver en présence de l'air libre; il pousse bien dans un atmosphère d'hydrogène.

Ce microorganisme que nous n'avons pas retrouvé dans nos cas, a été décrit par Veillon et Zuber (1) qui l'ont retiré du pus mastoïdien, du pus cérébral et des

(1) *Arch. de méd. expér.*, juillet 1898.

foyers pulmonaires gangréneux dans le cas qui fait l'objet de notre observation XIII; il était associé au *bacillus ramosus*; en culture pure, inoculé sous la peau des animaux, il donne des abcès, et les animaux meurent cachectiques au bout de 7 à 8 jours. Il paraît moins pathogène que le *bacillus ramosus*; mais quand les deux microbes sont associés, leur virulence paraît exaltée.

Bacillus ramosus (Veillon et Zuber).

C'est un bâtonnet assez fin, un peu plus gros que celui de la septicémie des souris. Ses éléments, souvent groupés deux par deux, peuvent même former de courtes chainettes. Leur longueur est variable, mais, dans le pus, ils sont plutôt courts; en culture les dimensions deviennent tout à fait irrégulières, et ils forment des pseudo-filaments. A un fort grossissement, on voit que les éléments filamenteux sont constitués par de petits bâtonnets accolés bout à bout. Des éléments courts sont souvent isolés ou unis en forme de V; d'autres sont enchevêtrés en amas comme le bacille de la diphtérie; leur épaisseur devient irrégulière, et ils présentent des renflements en forme de boule. Il garde le Gram, mais d'une manière inégale. Il est immobile.

Il ne pousse qu'à la température de l'étuve; par conséquent, il ne cultive pas sur gélatine. Dans la gélose, les colonies apparaissent dans l'épaisseur du milieu après 48 heures d'étuve. Ce sont de petits points très fins, grisâtres. Examinées à un faible grossisse-

ment, elles forment de petites masses sphériques ou ovoïdes, granuleuses, grisâtres, dont les contours diffus, sont comme hérissés de hachures. En grossissant, la colonie devient gris-jaunâtre, et les bords en sont plus nets. Ils nous a paru que, dans les premiers temps qui suivent son extraction d'un pus, ses colonies deviennent plus grosses et sont plus vivaces, quand la culture est impure; elles prennent souvent alors un aspect papillonacé, étant formées de 2 ou 3 disques, qui se coupent à des angles presque droits.

En surface, sur la gélose, le bacille forme une couche fine, blanc grisâtre, ressemblant à l'enduit donné par une culture de streptocoque; mais il est plus fin et plus transparent.

Les colonies développées à la surface de la gélose, et examinées à un faible grossissement forment de petites taches gris brunâtre et finement nuageuses.

Le bouillon ensemencé avec ce microbe se trouble, et il se forme un fin précipité blanchâtre.

Il ne donne que très peu de gaz, et répand une odeur fétide très caractéristique. Il se développe bien en présence de l'hydrogène. Il paraît assez vivace, et ses cultures sont encore vivantes au bout d'un mois.

Inoculé au cobaye, il donne des abcès sous-cutanés. Au lapin, il donne aussi des abcès, mais les animaux meurent en 8 ou 10 jours. Inoculé dans les veines, il tue le lapin en quelques jours par intoxication.

Veillon et Zuber ont inoculé simultanément le *b. ramosus* et le *b. serpens* au lapin. Ils ont provoqué de cette manière un phlegmon gangréneux qui décollait

rapidement toute la peau du ventre de l'animal. Ce phlegmon ne contenait que très peu de gaz, mais il s'en écoulait une sérosité sanieuse, à odeur gangréneuse typique; le tissu cellulaire était sphacélé et formait un putrilage infect. Dans ces conditions on arrivait, par passages, à tuer un lapin en 36 à 48 heures. Ils ont aussi injecté quelques gouttes du pus d'un de ces phlegmons provoqués chez le lapin, dans la veine de l'oreille d'un lapin neuf. L'animal est mort, et on a retrouvé dans le poumon des foyers de gangrène pulmonaire, où l'on a pu déceler la présence des deux bacilles par l'examen microscopique et les cultures.

Veillon et Zuber ont trouvé le *b. ramosus* dans le cas d'infection d'origine otique décrit dans notre observation XIII, et dans plusieurs cas d'appendicite. Nous l'avons fréquemment rencontré dans les pus fétides d'origine otique.

Bacillus perfringens (Veillon et Zuber).

C'est un gros bacille, trapu, dont la taille atteint presque celle de la bactérie charbonneuse; ses extrémités sont nettement limitées et carrées; dans le pus il est entouré d'une capsule bien colorable. En culture, il perd cette capsule; plusieurs éléments sont quelquefois bout à bout. Il se colore bien par le violet de gentiane; il garde très nettement le Gram, pourvu que les cultures soient jeunes; sur les cultures un peu anciennes, on trouve bout à bout des éléments bien colo-

rés et des éléments complètement décolorés. Lorsque tous les éléments sont décolorés, on peut être assuré que la culture est morte et ne se laissera pas réensemencer. Les éléments colorés ont souvent un aspect granuleux, dans les cultures un peu anciennes; et il semble alors qu'ils soient entourés d'une membrane incolore. Dans les cultures anciennes, on trouve des formes massuées, boursouflées, qu'il faut sans doute considérer comme des formes d'involution. Dans certaines conditions que nous n'avons pu déterminer, le bacille s'allonge démesurément et donne des filaments qui peuvent traverser tout le champ du microscope.

Le *B. perfringens* est immobile.

Il se développe très rapidement dans les milieux artificiels à la température de l'étuve et à celle de la chambre.

Dans l'épaisseur de la gélatine, on voit après 48 heures apparaître de petites colonies brunâtres, opaques, à bords irréguliers, perceptibles à un grossissement faible. A l'œil nu, la culture est bien visible après 3 ou 4 jours; on voit une traînée de colonies blanches, opaques, le long de la strie. La gélatine n'est jamais liquéfiée; elle est fendue par quelques bulles de gaz.

Dans la profondeur de la gélose, les colonies sont rondes ou lenticulaires, d'un blanc gris. A 37°, le développement est extrêmement rapide; il y a une production de gaz considérable, qui fragmente la gélose, la comprime et fait exsuder un liquide d'abord trouble, mais qui se clarifie très rapidement, la culture formant

un dépôt blanc pulvérulent dans les points déclives. En 48 heures à 37°, la culture a atteint son maximum et ne progresse plus ensuite. Sur la surface de la gélose, les colonies forment de petits points blancs, humides, analogues aux colonies de streptocoques, mais moins opaques, bleutées par transparence. A un faible grossissement, ces colonies sont jaunâtres, granuleuses, transparentes, à bords fins, réguliers ou ondulés, très flous.

Le bouillon est rapidement et uniformément troublé; il se forme un dépôt abondant.

Ce bacille, qui pousse très facilement et très rapidement, meurt en très peu de temps; il faut repiquer les colonies au bout de 3 à 4 jours. Les cultures, laissées à la température ordinaire, restent vivaces plus longtemps, parce qu'elles poussent plus lentement. Il ne paraît pas y avoir de formation des pores. Le *b. perfringens* produit beaucoup de gaz dans les cultures et répand une odeur très fétide.

Il est très pathogène pour le cobaye, auquel il donne un phlegmon gazeux, tout à fait analogue à celui produit par le vibrion septique. Les lapins sont moins sensibles; mais cependant ils meurent au bout de 3 à 10 jours quand on les a inoculés sous la peau, et après avoir présenté un phlegmon gangréneux. L'inoculation dans la veine tue le lapin en 8 jours environ.

Ce bacille a été trouvé par Veillon et Zuber dans les appendicites; nous l'avons trouvé dans plusieurs cas de mastoïdite et d'otorrhée fétide, ainsi que dans une pneumonie gangréneuse. Il paraît pouvoir exister dans

l'économie de l'homme sans provoquer de phénomènes morbides : c'est ainsi que nous l'avons trouvé en petite quantité, mais en culture pure, dans une vésicule biliaire oblitérée par un calcul enchatonné depuis longtemps. La vésicule enlevée par M. le D^r Tuffier nous fut remise intacte; elle contenait un liquide clair visqueux; les parois, en voie d'atrophie, ne présentaient aucune lésion inflammatoire.

Staphylococcus parvulus (Veillon et Zuber).

C'est un coccus très fin, plus petit que le staphylocoque doré, en diplocoque, ou en amas, ayant en culture les mêmes caractères que dans le pus.

Il est immobile.

Les couleurs d'aniline le colorent facilement, mais d'une façon peu intense. La méthode de Gram le décolore.

Il se développe lentement à 22°, très rapidement à 37°.

Ensemencé dans l'épaisseur de la gélatine, il donne au bout d'une huitaine de jours de petites colonies opaques, granuleuses, brunâtres (obj. o), dont les bords sont nets, quelquefois légèrement ondulés; en grossissant, la colonie devient de plus en plus brune, opaque et mûriforme. Le milieu n'est pas liquéfié.

Dans la gélose, le développement est rapide; les colonies sont jaunâtres, à bords bien limités. En surface, la culture donne de petits points très fins, très transparents, qui disparaissent peu à peu.

Le microcoque donne des gaz en petite quantité qui fendent faiblement la gélose en couche profonde, et qui sont très fétides.

Le bouillon est un bon milieu de culture; il se trouble rapidement, uniformément, et laisse déposer un fin précipité.

Le *staphylococcus parvulus* est pathogène pour le cobaye et le lapin, auxquels il donne des abcès sous-cutanés.

***Micrococcus fœtidus* (Veillon).**

Cet organisme se présente dans le pus sous forme de cocci isolés ou de diplocoques. Il a le même aspect dans les différents milieux. Dans le bouillon, il forme de véritables chaînettes, courtes, il est vrai, de quatre à cinq éléments, dont les grains paraissent identiques. Le microbe est immobile. Il se colore facilement par toutes les couleurs d'aniline, moins bien cependant que le streptocoque pyogène, dont il possède à peu près les dimensions; comme lui, il reste coloré par la méthode de Gram.

Ce coccus, qui ne pousse pas sur milieux aérés, forme, dans la profondeur de l'agar sucré, des colonies blanchâtres, sans caractère spécial, qui se développent habituellement après 24 ou 48 heures.

J. Hallé l'a vu pousser abondamment en agar sucré additionné de liquide d'ascite.

Il ne pousse pas sur gélatine, à la température de 22°.

Fig. 1.

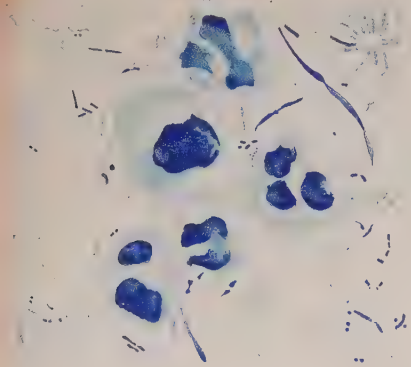
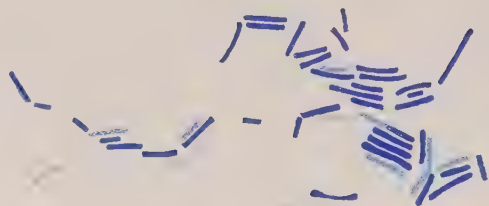


Fig. 2.



Fig. 3.



A Fig. 4. B

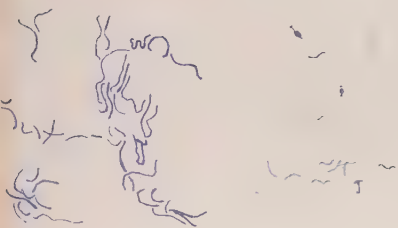


Fig. 5.

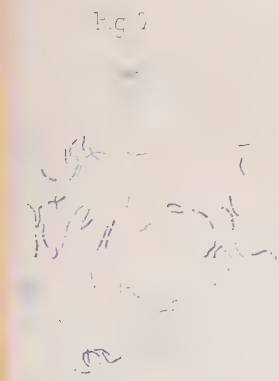
A



Fig. 5.

B

Fig. 6



Sur agar sucré, acidifié par l'acide lactique, il ne se développe pas (J. Hallé).

En bouillon sucré dans le vide, il se développe à la manière des streptocoques; il forme de petits grains assez volumineux, de taille variable, nageant dans le liquide, sans que celui-ci soit notablement troublé. Au repos, ces grains se réunissent dans le fond, et le bouillon devient clair.

Les cultures de cet organisme répandent une odeur désagréable, assez pénétrante; elles ne développent que rarement des gaz.

Ce microorganisme a été décrit pour la première fois par Veillon, qui le trouva dans trois cas de suppuration fétide (angine de Ludwig, phlegmon périnéphrétique et bartholinite) (1). J. Hallé l'a rencontré dans le vagin à l'état sain, dans l'exsudat des rétentions placentaires, dans le pus des bartholinites; il vient d'en publier une étude très complète dans sa thèse (2).

Il est possible qu'il soit identique au streptocoque anaérobie rencontré par Menge et Krönig dans le vagin (3). Nous l'avons trouvé quelquefois dans les supurations otiques.

(1) A. VEILLON. *Soc. de biol.*, 1893.

(2) J. HALLÉ. *Loc. cit.*

(3) MENGE et KRÖNIG. *Bakteriologie des Genitalkanales der Schwangeren, kreissenden und puerperalen Frau*. Leipzig, 1897.

Bacillus radiiformis (Rist et Guillemot).

C'est un petit bacille rectiligne, assez épais, dont les extrémités arrondies se colorent fréquemment, mais non toujours, plus énergiquement que le centre, ce qui lui donne un aspect en navette. On le trouve parfois en diplo-bacille, jamais en chaînettes. Il se décolore par la méthode Gram.

Cultivé en gélose sucrée en profondeur, il donne au bout de 48 heures des colonies blanchâtres très fines, parfois à peine visibles, et nécessitant l'usage du grossissement 0 ou 1 pour être distinguées. Même très isolées, elles n'atteignent jamais de grandes dimensions. Leur croissance est lente. Examinées à un faible grossissement, elles ont l'aspect de petits disques irréguliers, de couleur jaunâtre, transparents, ayant parfois à leur périphérie des prolongements irréguliers et pas très longs.

En gélatine sucrée en profondeur, cultivé à la température de 23°, ce bacille donne des colonies très caractéristiques. Elles sont nettement visible au 3° ou 4° jour, sous forme d'un petit grain translucide, nacré, soyeux, paraissant formé de 2 ou 3 couches concentriques, et possédant une sorte de noyau brunâtre, plus opaque. A un grossissement obj. 2, ocul. 3 de Leitz, avec éclairage oblique, on voit un ovoïde jaunâtre de forme régulière, avec un noyau central brun, irrégulier; la surface de l'ovoïde est hérissée de petits prolongements courts, rectilignes, transparents, plantés

très dru, et ressemblant à des soies de porc; l'aspect est celui d'un oursin ou d'une châtaigne munie de sa coque. Si l'on diaphragme beaucoup et que l'éclairage soit très oblique, on obtient un ovoïde blanc nacré, un peu irisé, sur fond noir; les prolongements se voient alors beaucoup moins bien. Au bout de 5 à 6 jours, la colonie a notablement augmenté de volume : elle est composée d'un petit noyau brunâtre entouré d'une zone jaunâtre; autour de cette zone, un espace clair, puis un anneau fin, nacré, dont le contour extérieur mal limité se confond assez brusquement avec une atmosphère finement nuageuse, qui a un rayon d'un centimètre à peu près, et qui est la zone de *liquéfaction de la gélatine*. Ces différentes couches ne sont pas exactement concentriques; le noyau central paraît attiré en bas par la pesanteur, ce qui produit une excentricité générale de la colonie. L'examen microscopique à faible grossissement permet de distinguer seulement le noyau irrégulier entouré d'une zone jaunâtre, puis d'une zone grisâtre moins nette. Les caractères si nets de la colonie jeune ont disparu.

Le bacillus radiiformis est immobile.

Il pousse entre 20° et 30°. Il est peu vivace; ses cultures meurent en 8 à 10 jours.

Inoculé sous la peau du ventre du cobaye, il le tue en 8 jours, avec formation d'un abcès au point d'inoculation.

Nous l'avons trouvé, ainsi que les deux espèces suivantes, dans le cas qui fait le sujet de notre observation XI.

Bacillus thetoïdes (Rist et Guillemot).

Ce microorganisme, sous sa forme la plus caractéristique, se présente comme un bacille large, ressemblant à un ovoïde allongé, se colorant d'une manière inégale, les parties les plus teintées se trouvant tantôt aux deux extrémités, tantôt au centre, ce qui lui donne une analogie assez grossière avec la lettre grecque Θ . A côté de ces formes, on en trouve de plus longues, où les grains colorés sont répartis régulièrement d'une extrémité à l'autre, au nombre de 4 ou 5; il en est d'autres qui présentent un étranglement en leur milieu, et au niveau de cet étranglement une sorte d'anneau mieux coloré. Mais le polymorphisme de ces organismes peut-être plus accentué encore. Dans certaines cultures, on voit surtout des formes sphériques, atteignant parfois un volume considérable (un tiers de leucocyte environ); ce sont alors de gros utricules, irréguliers, sphéroïdaux, d'aspect granuleux, se colorant mal; les granulations isolées si nettes dans les formes bacillaires disparaissent alors complètement. Ces formes sphériques ne nous ont pas paru dépendre de phénomènes d'involution; on les trouve en effet aussi bien dans les cultures jeunes (2 jours) que dans les cultures plus anciennes. Une colonie de 14 jours nous a présenté presque exclusivement des formes bacillaires, tandis que les formes sphériques dominaient dans une culture de 8 jours; mais on peut aussi observer le contraire;

une même colonie contient en règle générale les formes les plus variées. Les microorganismes sont en amas sans affecter d'arrangement bien net.

Le liquide de Ziehl colore cet organisme à peu près de la même manière que le violet de gentiane. Les préparations traitées par la méthode de Gram sont complètement décolorées.

Cultivé en gélose sucrée en profondeur, le *B. thëtoïdes* apparaît, lorsque la semence a été abondantes, au bout de 48 heures d'étuve à 37°, sous forme de petites colonies arrondies, d'un blanc jaunâtre, translucides, généralement un peu plus volumineuses au niveau de la zone limite. Quand les colonies sont plus disséminées, elles n'apparaissent guère que vers le 3^e ou 4^e jour. Elles atteignent en 2 jours un volume assez considérable, et prennent alors un aspect caractéristique: ce sont des disques ou des ménisques biconvexes, à bords très régulièrement circulaires, nets, minces et tranchants. Leur diamètre peut aller jusqu'à 2 ou 3 millimètres. Elles sont translucides, d'une coloration jaune claire uniforme.

Examinées à un faible grossissement, elles représentent des disques d'un jaune ambré, dont la surface semble très légèrement granuleuse, dont les bords nets sont très régulièrement circulaires; au centre des colonies un peu grosses on voit souvent une tache ronde d'une coloration un peu plus foncée.

Les tubes de gélatine, placés dans l'étuve à 23°, restent stériles.

Le microbe est immobile.

Ensemencé en abondance, il donne quelques bulles de gaz.

La vitalité de cet organisme paraît être assez inégale; elle est plus grande lorsque les colonies sont suffisamment espacées. Un réensemencement nous a réussi au bout de 18 jours. D'autres fois, au bout d'un temps beaucoup plus court, les réensemencements sont stériles.

Nous avons fait des inoculations à deux cobayes sous la peau du ventre. Le premier mourut en 12 jours. Il présentait au point d'inoculation une eschare ronde, grande comme une pièce d'un franc, dure, sèche, noire, entourée d'un sillon d'élimination taillé à pic, dont le fond était verdâtre, sec, et qui était lui-même limité par un bourrelet rougeâtre, saignant. Une ponction pratiquée à travers l'eschare permit de retirer une sérosité fétide, d'un jaune sale, où l'on retrouva par colorations et par cultures le *B. thetoïdes*. Le deuxième cobaye mourut en 7 jours avec un abcès assez étendu, présentant un bourrelet périphérique.

Spirillum nigrum (Rist).

Ce microorganisme se présente sous forme de petits éléments minces, à bouts arrondis, incurvés en forme de parenthèse ou d'S italique; les formes rectilignes sont rares. Examinés sans coloration, ils portent, pour la plupart, à une de leurs extrémités ou en leur milieu, parfois à l'union des deux tiers avec le tiers, un petit grain noir qui augmente en ce point l'épaisseur

apparente du microbe. La présence de ces grains paraît diminuer après un grand nombre de réensemencements successifs.

Ces spirilles sont d'une mobilité extrême; ils traversent le champ du microscope en tous sens, avec une rapidité très grande; leur mouvement est onduleux, en vrille; il s'arrête au voisinage d'une bulle d'air, et alors les microbes s'amassent en un enchevêtrement inextricable, où se détachent les grains noirs ci-dessus décrits. Chaque grain paraît occuper une place fixe dans le corps bacillaire; il la conserve au cours des mouvements.

La coloration par le violet de gentiane simple, échoue souvent, même après un séjour prolongé de la préparation dans le bain colorant. La couleur s'arrête au pourtour du bacille, à une certaine distance de lui, et on ne voit qu'une sorte de petit boyau pâle dans une masse de gélose colorée. D'autres fois, le spirille est coloré au centre d'une gangue pâle; il apparaît alors comme un bâtonnet très mince, quelquefois droit, le plus souvent incurvé en S; il est coloré d'une manière uniforme; à une de ses extrémités on voit parfois un petit renflement (grain noir?). Il est probable que la difficulté de la coloration tient à la présence des cils vibratiles.

Le Ziehl à froid réussit beaucoup mieux; les spirilles, colorés en rouge vif, ont un aspect granuleux, et ressemblent beaucoup au vibrion cholérique.

La méthode de Gram les décolore entièrement.

En agar sucré en profondeur, les colonies, lorsque

l'ensemencement a été abondant, commencent à apparaître au bout de 24 heures d'étuve. Elles forment un nuage grisâtre, plus développé et plus foncé au niveau de la zone limite. Au sein du nuage inférieur, on voit généralement quelques amas plus denses, qui ont alors une coloration nettement noire.

Au niveau de cette zone il y a souvent un disque de colonies plus ou moins opaques, séparé des colonies du fond. Il peut même y avoir deux disques superposés, et le plus superficiel est très voisin de la surface libre, dont il n'est parfois séparé que par un espace de 4 à 5 millimètres. Ces disques n'apparaissent que tardivement.

Les colonies bien séparées peuvent se présenter sous divers aspects. Les plus caractéristiques sont d'un noir de charbon, opaques, bien limitées, de forme ronde ou plutôt discoïde (ménisques biconvexes à convexité très accentuée). Elles atteignent un diamètre de 2 à 3 millimètres, et leur développement se fait du fond vers la surface. Quelquefois une de ces colonies est entourée d'un essaim de colonies beaucoup plus petites, d'un gris foncé. Examinées à un faible grossissement, elles n'offrent aucun détail de structure; leur coloration reste d'un noir opaque; leurs bords sont nettement tranchés.

D'autres fois, les colonies sont d'un brun grisâtre assez foncé; leurs limites sont alors moins nettes et comme nuageuses.

En gélatine sucrée en profondeur, le spirille donne, après 4 ou 5 jours d'étuve à 23°, des colonies générale-

ment très bien séparées, d'un noir intense, opaque, et qui ne liquéfient pas le milieu. Il y a quelquefois autour de la colonie un très fin nuage blanchâtre, transparent.

En gélatine sucrée liquéfiée, à la température de 37°, il se développe en 3 ou 4 jours un nuage gris assez foncé qui tombe au fond du vase.

L'odeur de ces cultures est extrêmement fétide et pénétrante, rappelant celle de l'œuf pourri.

La vitalité de cet organisme est grande. Les colonies bien isolées ont pu être réensemencées au bout d'un mois. Il développe très peu de gaz.

Nous l'avons inoculés sous la peau du ventre à deux cobayes qui moururent au bout de 15 jours sans présenter de lésions appréciables à l'autopsie. Un lapin, inoculé dans le péritoine, ne parut pas donner de réaction.

CONCLUSIONS

I. — Les otites moyennes aiguës peuvent être dues, ainsi que l'ont démontré Netter et Zaufal, à des micro-organismes aérobies pathogènes, tels que le streptocoque et le pneumocoque. Il est même possible que ces agents jouent le rôle principal dans la grande majorité des otites aiguës primitives, et qu'au début de l'affection, ils se trouvent souvent en culture pure dans l'exsudat.

II. — Toutefois, même dans les cas aigus observés avant la perforation du tympan, on peut trouver le streptocoque, le pneumocoque, etc., associés à d'autres formes bactériennes, et en particulier à des bacilles.

III. — Le pus des otorrhées chroniques est toujours polymicrobien. La majorité de ces otorrhées est caractérisée par la fétidité. L'examen microscopique des pus d'otorrhée fétide fait constater la présence d'un très grand nombre de formes bactériennes variées qui coexistent dans la sécrétion. Les cultures, pratiquées

sur des milieux aérés, ne révèlent au contraire qu'un petit nombre d'espèces, le plus souvent saprophytes ; et la majeure partie des formes observées sur les lamelles font défaut dans les cultures.

IV. — L'emploi des méthodes de culture anaérobies donne la raison de cette contradiction apparente. Car on peut ainsi retrouver la plupart des microorganismes qui ne se développaient pas sur les milieux aérés.

V. — Les mastoïdites aiguës, lorsqu'elles sont consécutives à des otites aiguës récentes, peuvent être dues au streptocoque ou au pneumocoque en culture pure. Dans ce cas le pus n'est pas fétide.

IV. — Le plus souvent, les mastoïdites surviennent au cours d'otorrhées chroniques fétides. Le pus mastoïdien est alors fétide, et on y trouve à l'examen microscopique un grand nombre de formes bactériennes extrêmement variées. Tandis que les cultures aérobies ne fournissent que peu de colonies, constituées par des microbes banaux, l'ensemencement sur des milieux privés d'oxygène permet au contraire de cultiver, dans ces cas, plusieurs espèces strictement anaérobies.

VII. — Le meilleur moyen de séparer les espèces anaérobies consiste dans l'emploi des tubes de Liborius ; il est nécessaire de faire des dilutions nombreuses pour obtenir des colonies bien isolées.

VIII. — Les complications infectieuses des mastoïdites aiguës fétides, qu'elles soient dues à une simple propagation ou à un processus septicopyémique, ont toujours un caractère fétide et gangréneux.

IX. — On retrouve dans les abcès encéphaliques, dans les méningites suppurées, dans les phlegmons diffus, dans les arthrites suppurées, dans les foyers de gangrène pulmonaire consécutifs aux mastoïdites fétides les microorganismes que renfermait le pus mastoïdien. Ces microorganismes sont en majeure partie des anaérobies stricts.

X. — Les microorganismes anaérobies que l'on rencontre dans les suppurations fétides d'origine otique appartiennent à des espèces très nombreuses et de formes variées. Il n'est pas encore possible, à l'heure actuelle, de faire de ces espèces un catalogue complet.

XI. — Parmi ces espèces, il en est qui paraissent dépourvues de pouvoir pathogène. Mais il en est d'autres qui développent chez les animaux inoculés des suppurations gangréneuses souvent mortelles.

XII. — Ce sont ces derniers microorganismes qui sont les agents principaux des mastoïdites aiguës et des septicémies qui en sont la conséquence. Ils n'agissent pas à la manière des saprophytes, et leur rôle ne se borne pas à donner au pus son odeur fétide. Plusieurs d'entre eux sont doués d'une virulence extrême, et peu-

vent provoquer soit par leur action directe soit par les poisons qu'ils sécrètent, la destruction des tissus et leur putréfaction gangréneuse.

XIII. — Les septicémies gangréneuses et fétides d'origine otique tiennent donc leur allure clinique si spéciale de la nature même des microorganismes qui les déterminent, microorganismes anaérobies stricts dont les propriétés biologiques rendent compte du caractère gangréneux des accidents observés.

XIV. — La pathogénie de ces septicémies est donc soumise à la loi générale établie par Veillon et Zuber, qui attribuent à des microorganismes strictement anaérobies l'origine des processus gangréneux et putrides.

Vu :

Le doyen,

P. BROUARDEL.

VU ET APPROUVÉ :

Le président de thèse,

GRANCHER.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le vice-recteur de l'Académie de Paris,

O. GRÉARD.

TABLE ANALYTIQUE DES MATIÈRES

	Pages.
INTRODUCTION.	9
CHAPITRE PREMIER. — Historique.	19
CHAP. II. — Méthode et techniques employées.	50
§ 1. — <i>Matériel à examiner.</i>	50
§ 2. — <i>Colorations de pus.</i>	52
§ 3. — <i>Ensemencements aérobie.</i>	55
§ 4. — <i>Ensemencements anaérobies. — Historique.</i>	57
§ 5. — <i>Ensemencements anaérobies. — Procédé employé dans nos recherches.</i>	70
§ 6. — <i>Séparation des espèces anaérobies.</i>	76
§ 7. — <i>Caractères de culture et coloration des microor- ganismes anaérobies.</i>	81
§ 8. — <i>Inoculations.</i>	88
CHAP. III. — Otorrhées chroniques.	90
CHAP. IV. — Mastoidites non compliquées.	101
CHAP. V. — Suppurations otiques compliquées d'infections de voisinage ou de septicémies gangréneuses. . . .	116
CHAP. VI. — Description des principales espèces strictement anaérobies étudiées.	147
CONCLUSIONS.	170

EXPLICATION DE LA PLANCHE

FIG. 1. — Aspect d'un pus d'otorrhée chronique (Observation I) (coloration simple).

FIG. 2. — Petit bacille filamenteux, poussant en colonies nébuleuses strictement anaérobies, isolé dans le pus mastoïdien de l'observation XI (coloration simple).

FIG. 3. — *Bacillus perfringens*. Culture pure en agar sucré. Coloration par la méthode de Gram. On aperçoit quelques formes décolorées qui correspondent à des éléments morts.

FIG. 4. — *Bacillus ramosus*. Culture pure en agar sucré. Coloration par la méthode de Gram. En A, on voit des formes filamenteuses correspondant à une colonie ancienne. En B, sont représentées des formes courtes telles qu'on les voit dans le pus et dans les cultures jeunes.

FIG. 5. — *Bacillus thétôïdes*. Culture en agar sucré. Coloration simple. En A, formes bacillaires variées provenant d'une culture de 14 jours. En B, formes globuleuses provenant d'une culture de 8 jours.

FIG. 6. — *Bacillus radiiformis*. Culture pure en agar sucré. Coloration simple.

FIG. 7. — *Spirillum nigrum*. Culture pure en agar sucré. Coloration simple.

N. B. — Toutes nos figures représentent des préparations examinées avec l'obj. à immersion au 1/12° de Leitz et l'oculaire n° III.



CHARTRES. — IMPRIMERIE DURAND, RUE FULBERT.